Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

167. BAND, 4. HEFT
MIT 18 ABBILDUNGEN IM TEXT
(ABGESCHLOSSEN AM 15. MAI 1959)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J.F. BERGMANN · MÜNCHEN
1959

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 167 — **Inhaltsverzeichnis** — Heft 4

Originalabhandlungen — Seite

Sándi, E., Beiträge zur Analyse einiger insecticider Thiophosphorsäureester. Mit 11 Textabbildungen 241

Procházková, L., Bestimmung der Nitrate im Wasser. Mit 2 Textabbildungen. . . 254

Bermejo Martinez, F., und R. Mendoza, Analytische Anwendung der Chelone. XVII. Das Murexid als Indicator für die maßanalytische Makro- und Mikrobestimmung von Kupfer mit einer Maßlösung von 1,2-Diaminocyclohexantetraessigsäure 261

Kohlschütter, H. W., und H. Getrost, Trennungen von Kationen an der Silicagelsäule 264

Jackwerth, E., und H. Specker, Maßanalytische Bestimmung von zweiwertigem Quecksilber in Gegenwart von Chlorid, Bromid und Schwermetallen. 269

Oehme, F., Dielektrische Schnellbestimmung des Restwassergehaltes anorganischer Düngesalze. Mit 5 Textabbildungen. 271

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Staatlichen Institut für Ernährungs- und Verpflegungswissenschaft, Budapest

Beiträge zur Analyse einiger insecticider Thiophosphorsäureester

Von

E. SÁNDI

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. November 1958)

Die Nitrophenylester der Dialkylthiophosphorsäure, bzw. E 605 (Parathion) und ähnliche Verbindungen[27] finden in der Landwirtschaft als Insecticide immer häufiger Verwendung. Aus diesem Grunde und da sie auf Nutztiere und Mensch eine starke toxische Wirkung ausüben, befassen sich von Tag zu Tag mehr Mitteilungen mit der Analytik dieser Substanzen.

Die zur Bestimmung geeigneten Methoden können in vier Hauptgruppen eingeteilt werden:

1. Die direkte photometrische Messung der sich bei der alkalischen Hydrolyse bildenden Nitrophenole[2,4,5,8,9,14,17,22,23] ist eine verhältnismäßig empfindliche Methode, da die Nitrophenole in alkalischer Lösung eine intensiv gelbe Farbe aufweisen. Durch geeignete Vorbehandlung kann die Wirkung einiger störender Beimengungen beseitigt werden und so sind diese Methoden zur Bestimmung des Wirkstoffgehaltes von Präparaten und der Spritzmittelrückstände auch geeignet. Ihre Spezifität ist aber oft unzureichend. Sie können daher nur mit schwerfälligen, reaktionskinetischen Messungen ergänzt einigermaßen so gestaltet werden, daß sie sich zur Trennung gewisser analoger Verbindungen eignen[5,22,23].

2. Die Methode nach AVERELL u. NORRIS[1] und ihre Modifikationen[6,8–10,32] beruhen auf Reduktion der Nitrogruppe; das so gebildete Amin wird diazotiert und mit einem geeigneten Reagens gekuppelt. Die Farbintensität des gebildeten Farbstoffes erreicht nahezu das Zweifache des Nitrophenols, deshalb ist diese Methode von noch größerer Empfindlichkeit als die vorherige. Es können Wirkstoffmengen der Größenordnung von 20 μg mit genügender Genauigkeit bestimmt werden. Als typische Mikromethode ist sie aber zur Bestimmung des Wirkstoffgehaltes von Präparaten wenig geeignet, sie wird hauptsächlich zur Bestimmung von Spritzrückständen angewandt. Auch bei diesen Methoden ist jedoch die Spezifität begrenzt und nur zur Trennung irgendeines Esters und seines Zersetzungsproduktes, des Nitrophenols, ausreichend.

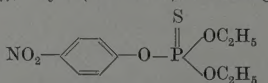
3. Die physiologische Wirkung der Verbindungen des Typs E 605 beruht auf der Hemmung des lebenswichtigen Cholinesterase-Enzyms. Viele Bestimmungsmethoden beruhen auf dieser Wirkung: Die Wirkstoffe oder ihre künstlichen Umwandlungsprodukte werden mit Enzympräparaten versetzt und danach wird die Restaktivität des Enzyms im Wege der Bestimmung der aus Acetylcholin in Freiheit gesetzten Essigsäure gemessen (siehe z. B.[12,13].) Einige dieser Methoden sind mit papierchromatographischer Trennung verbunden, wodurch ihre Spezifität erhöht wird[7]. Alle diese Verfahren sind naturgemäß von sehr hoher Empfindlichkeit und zur Bestimmung von Wirkstoffmengen weit unter 1 μg anwendbar, ihre Genauigkeit und Spezifität ist jedoch begrenzt.

4. Als letzte sei die polarographische Methode genannt. Diese ist von BOWEN und EDWARDS[3] und durch JOSEPOVITS und PRIVITZER[16] verbessert worden. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß die Nitrogruppe von E 605 an der tropfenden Quecksilberelektrode reduzierbar und polarographisch bestimmbar ist. Die Empfindlichkeit ist hierbei geringer, als bei den vorgenannten Methoden, doch kann die Spezifität weitaus günstiger gestaltet werden, was in dieser Arbeit demonstriert werden soll.

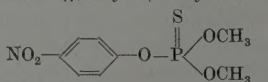
Die vorliegende Mitteilung beschreibt die Anwendung der polarographischen Methode auf halogenhaltige E 605-Abkömmlinge und auf E 600 sowie ein kombiniertes säulenchromatographisch-polarographisches Verfahren, das den gleichzeitigen Nachweis und die Bestimmung verschiedener Verbindungen der Reihe ermöglicht. Außerdem werden die bei der Haltbarkeitskontrolle der Stammlösungen aufgenommenen UV-Spektren der untersuchten Verbindungen mitgeteilt.

A. Die untersuchten Verbindungen*

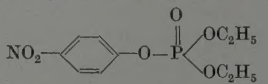
E 605-Wirkstoff, Bayer (Parathion) Reinheitsgrad 99%



Methyl-E 605-Wirkstoff, Bayer (Methyl-Parathion) Reinheitsgrad 99%

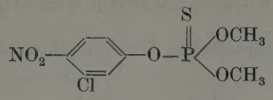


E 600-Wirkstoff, Bayer (Paraoxon), Reinheitsgrad 99%

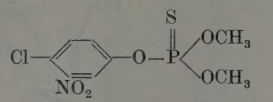


* Die angeführten Verbindungen wurden durch Herrn Dr. G. SCHRADER (Farbenfabriken Bayer A.G. Wuppertal-Elberfeld) und Herrn Dr. G. JOSEPOVITS (Forschungsinstitut für Pflanzenschutz, Budapest) freundlichst zur Verfügung gestellt, wofür ich auch hier meinen Dank ausspreche.

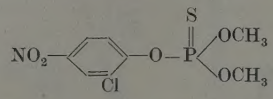
Chlorthion-Wirkstoff, Bayer, Reinheitsgrad 99%



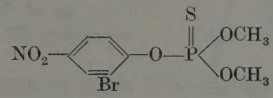
Isochlorthion-Wirkstoff, Bayer, Reinheitsgrad 97%



Isomeres Chlorthion, Forschungsinstitut für Pflanzenschutz, Reinheitsgrad etwa 98%, Fp. = 46° C



„*Bromthion*", Forschungsinstitut für Pflanzenschutz, Reinheitsgrad etwa 90%, Fp. = 60—63° C



Aus diesen Verbindungen wurden 10^{-2} m Lösungen mit 96%igem redestilliertem Äthylalkohol hergestellt. Da die Untersuchungen längere Zeit dauerten, wurden die UV-Spektren aus den frischen Stammlösungen aufgenommen; die Aufnahmen wurden während der Lagerung öfters wiederholt, um die etwaige Zersetzung feststellen zu können. Da unseres Wissens die UV-Spektren der angeführten Verbindungen mit zwei Ausnahmen in der Fachliteratur noch nicht veröffentlicht worden sind, sind diese in den Abb. 1—7 (S. 244 u. 245) reproduziert. Die Aufnahmen sind mit einem Beckman DU-Spektrophotometer in 1 cm-Quarzküvetten in 3 zweckmäßig gewählten Verdünnungen aufgenommen. Unsere E 605- und E 600-Spektren sind mit den Literaturangaben in Übereinstimmung[11,30]. Serienmessungen haben ergeben, daß die untersuchten Wirkstoffe in äthylalkoholischer Lösung bei Zimmertemperatur im Dunkeln aufbewahrt innerhalb von 5 Monaten keiner wahrnehmbaren Zersetzung unterliegen.

Das polarographische und chromatographische Verhalten der bei der Hydrolyse der angeführten Ester sich bildenden Nitrophenole wurde ebenfalls untersucht. Es handelte sich um folgende Verbindungen:

p-Nitrophenol, pro analysi, Schering-Kahlbaum,
p-Nitrophenol, aus E 605, Methyl-E 605 und E 600,
3-Chlor-4-nitrophenol, aus Chlorthion Bayer,

4-Chlor-3-nitrophenol, aus Isochlorthion Bayer,
2-Chlor-4-nitrophenol, aus isomerem Chlorthion, Forschungsinstitut für Pflanzenschutz,
2-Brom-4-nitrophenol, aus Bromthion, Forschungsinstitut für Pflanzenschutz.

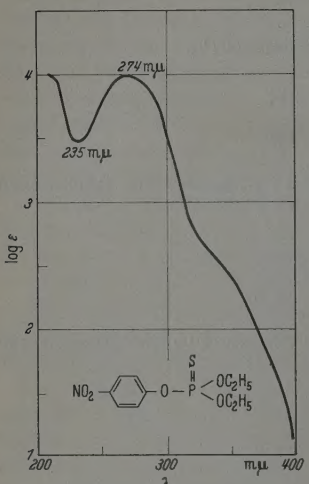


Abb. 1. UV-Spektrum von E 605

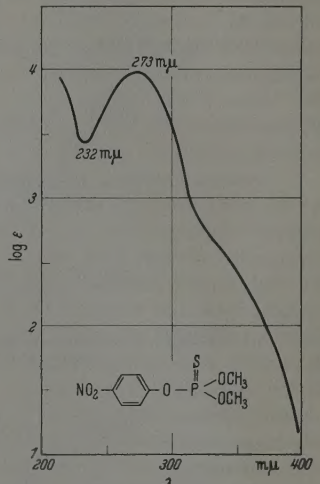


Abb. 2. UV-Spektrum von Methyl-E 605

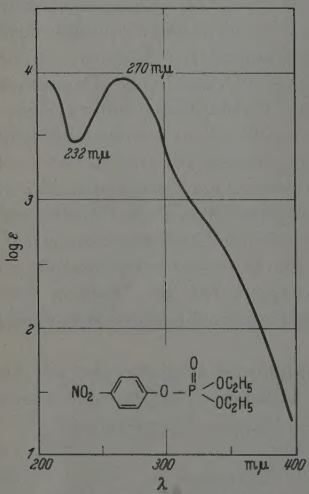


Abb. 3. UV-Spektrum von E 600

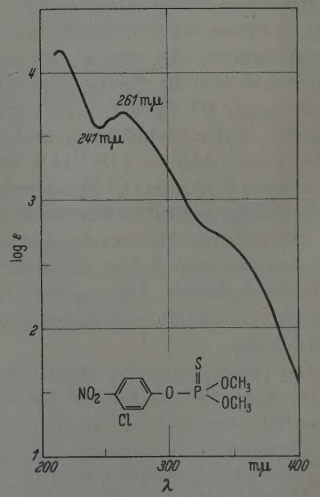


Abb. 4. UV-Spektrum von Chlorthion

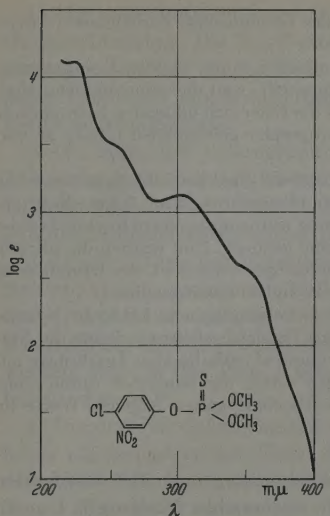


Abb. 5. UV-Spektrum von Isochlorthion

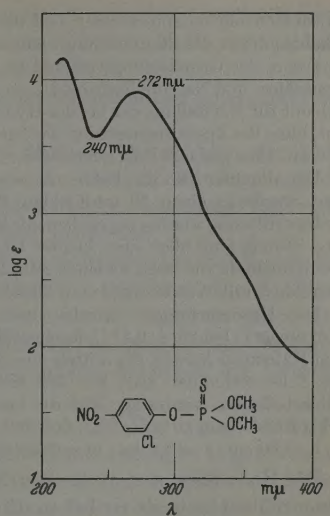


Abb. 6. UV-Spektrum vom isomeren Chlorthion

Die Art der Herstellung dieser Nitrophenole wird weiter unten im Zusammenhang mit der Beschreibung der polarographischen Grundlösung mitgeteilt.

B. Polarographische Untersuchungen

Die zu den polarographischen Untersuchungen angewandte Grundlösung wurde wie folgt zusammengestellt:

10,4 ml 96%iger Äthylalkohol, 3,0 ml 0,4 m Essigsäure, 3,0 ml 0,2 m Natriumhydroxydlösung, 1,0 ml 0,15%ige Tylose, mit destilliertem Wasser auf 20 ml ergänzt.

Diese Grundlösung ist eine Modifikation der in der Literatur veröffentlichten[16]. Ihr Vorteil besteht darin, daß Essigsäure und Natriumacetat in dem Verhältnis anwesend sind, das der maximalen Pufferkapazität entspricht, was einen günstigen nominellen p_H-Wert von 4,6 ergibt. Bei diesem Säuregrad muß nicht befürchtet werden, daß die Wirkstoffe während der Untersuchung eine meßbare Hydrolyse erleiden[24]. — Da die untersuchten Ester in äthylalkoholischer Grundlösung zur Verfügung standen, veränderten sich die Konzentrationsverhältnisse bei Zusammenstellung der Lösungen nicht,

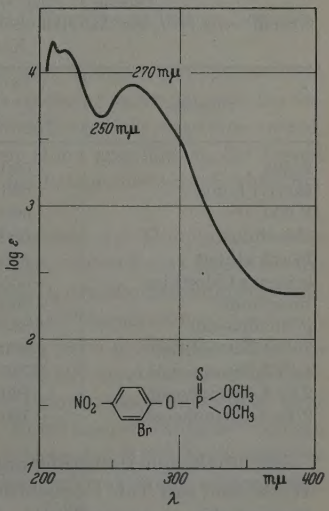


Abb. 7. UV-Spektrum von Bromthion

da einfach ein entsprechender Teil des in der Grundlösung vorhandenen Äthylalkohols durch die Stammlösung ersetzt wurde.

Der in der Grundlösung vorhandene Acetatpuffer wurde aus den Komponenten Essigsäure und Natriumhydroxyd zusammengestellt, weil dies eine einfache Möglichkeit zur Herstellung der bei der Hydrolyse der Ester sich bildenden Nitrophenole bot, ohne die Zusammensetzung der zur Polarographie gelangenden Lösung zu verändern. Dies geschah folgendermaßen:

Ein aliquoter Teil des Esters, dessen Nitrophenol-Spaltprodukt zu untersuchen war, wurde in einen 50 ml-Kjeldahl-Kolben übergeführt, 3 ml 0,2 m Natriumhydroxydlösung wurden zugegeben, die Mischung wurde unter einem Rückflußkühler eine Stunde lang über einer kleinen Gasflamme gekocht. Nun wurden die übrigen Komponenten, die noch fehlende Äthylalkoholmenge inbegriffen, der Grundlösung zugeführt, mit Wasser wurde auf 20 ml ergänzt und so polarographiert.

Die Untersuchungen wurden mit einem Polarographen LP 55A, System HEYROVSKÝ, bei 25 ± 0,1° C durchgeführt. Als Vergleichselektrode diente die Normal-Kalomelelektrode, die mittels einer Kaliumnitrat enthaltenden Agarbrücke mit der Zelle verbunden war. Vor den Messungen wurde der Sauerstoff durch einen Stickstoffstrom verdrängt. Für die benutzte Capillare galten folgende Werte (in 0,1 n KCl-Lösung):

h = 60 cm; t = 3,2 sec; m = 2,25 mg/sec.

Die Reduktion der cyclischen Nitroverbindungen an der tropfenden Quecksilberelektrode ist bekanntlich ein irreversibler Vorgang[28]. Um ein annäherndes Bild über den Grad der Irreversibilität zu erhalten, wurden die Halbstufenpotentiale bei verschiedenen Konzentrationen bestimmt. Je irreversibler nämlich eine solche Reduktion ist, um so mehr ist der Wert des Halbstufenpotentials von der Konzentration abhängig.

Tabelle 1. *Polarographische $E^1/_2$- und i_d/C-Werte*
Grundlösung 50%iger Äthylalkohol und Acetatpuffer. Vergleichselektrode 1 n Kalomelelektrode

Substanz	$E^1/_2$-Werte in mV bei den Konzentrationen			i_d/C mA · Mol^{-1} · Liter^{-1}
	$1{,}5 \cdot 10^{-3}$ m	$5 \cdot 10^{-4}$ m	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$ m	
E 605	−630	−570	−535	8,8
Methyl E 605	−635	−600	−565	9,1
E 600	−660	−630	−610	9,0
Chlorthion	−600	−565	−535	8,8
Isochlorthion	−555	−500	−480	8,8
isomeres Chlorthion	−555	−465	−445	8,7
Bromthion	−560	−485	−440	8,7
p-Nitrophenol	−845	−820	−800	10,8
3-Cl-4-Nitrophenol	−800	−775	−760	10,5
4-Cl-3-Nitrophenol	−705	−680	−660	9,5
2-Cl-4-Nitrophenol	−760	−735	−720	10,4
2-Br-4-Nitrophenol	−760	−735	−720	9,8

Die erhaltenen Halbstufenpotentialwerte sowie die beobachteten i_d/C-Werte sind aus Tab. 1 ersichtlich; sie können folgendermaßen kommentiert werden:

1. Alle untersuchten Ester sind an der tropfenden Quecksilberelektrode reduzierbar. Die $E_{1/2}$-Werte hängen in hohem Maße von der Konzentration ab. Die Unterschiede zwischen den $E_{1/2}$-Werten der verschiedenen Ester sind jedoch zu gering, um sie nebeneinander polarographisch bestimmen zu können.

2. Die Höhe der polarographischen Stufe der Ester, bzw. die in der Tabelle angeführten $i_d C/$-Werte zeigen voneinander nur innerhalb der Fehlergrenze der Methode liegende Abweichungen, was darauf hindeutet, daß die Diffusionskoeffizienten praktisch gleich sind.

3. Die $E_{1/2}$-Werte der Nitrophenole hängen deutlich von der Konzentration ab, aber in geringerem Maße als im Falle der Ester. Die $E_{1/2}$-Werte der Nitrophenole sind alle viel negativer als die der dazu gehörenden Ester. Somit können beide nebeneinander polarographisch bestimmt werden, was für das Paar E 605-p-Nitrophenol bereits in der Literatur beschrieben ist[16].

4. Die den Nitrophenolen entsprechenden i_d/C-Werte sind bedeutend höher als diejenigen der Ester. Ähnliche Beobachtungen liegen von anderer Seite[15] für Ester vor, die Nitrogruppen enthalten, aber von anderem Typus sind. Es ist anzunehmen, daß diese Erscheinung außer durch die Differenzen in den Diffusionskoeffizienten auch dadurch verursacht wird, daß die Reduktion der Nitrophenole mit einem größeren Aufwand an Elektronen abläuft, als die der Ester. Wegen der hochgradigen Irreversibilität dieser Vorgänge ist diese Annahme schwer einwandfrei nachzuweisen.

Außer diesen Betrachtungen, die aus der zahlenmäßigen Auswertung der Polarogramme stammen, können noch folgende qualitative Beobachtungen verzeichnet werden.

Auf den Polarogrammen der Ester, die kein Halogen enthalten, sowie auf dem Polarogramm des p-Nitrophenols erscheint unter den von uns angewandten Bedingungen bei viel negativeren Potentialwerten eine zweite, sehr flache polarographische Stufe, deren Höhe ungefähr $^1/_3$ der ersten Stufe erreicht. In den Polarogrammen der halogenhaltigen Verbindungen tritt keine zweite Stufe auf.

In den Polarogrammen der bei der Hydrolyse der Thiophosphatester sich bildenden Nitrophenole ist bei ungefähr -20 mV eine kleine anodische Stufe zu beobachten, deren Höhe etwa $^1/_6$ der Hauptreduktionsstufe erreicht. Diese Oxydationsstufe kann weder an Polarogrammen des reinen p-Nitrophenols noch an den Polarogrammen jenes p-Nitrophenols beobachtet werden, das bei der Hydrolyse des E 600 entsteht. Daraus kann geschlossen werden, daß diese Stufe der Thiophosphorsäure, bzw. dem Dialkylthiophosphorsäureester zugehört. Einer Literaturangabe[26] zufolge werden nämlich bei der alkalischen Hydrolyse der E 605-Verbindungen die Alkylgruppen von dem Thiophosphorsäurerest nicht abgespalten. Wir haben die Erscheinung nicht weiter verfolgt.

C. Chromatographische Untersuchungen

Über die gleichzeitige Bestimmung der Verbindungen der E 605-Reihe gibt es nur wenig Literaturangaben. Diese beschränken sich auf Äthyl- und Methyl-E 605, die an Hand ihrer IR-Spektren[22], der unterschiedlichen Hydrolysegeschwindigkeiten[22,23] und neuestens durch Nachweis und Bestimmung des nach vollständiger Hydrolyse sich bildenden Äthyl-, bzw. Methylalkohols, bestimmt werden[29]. All diese Methoden sind umständlich und auf technische Präparate kaum anwendbar. Die oben beschriebenen polarographischen Untersuchungen zeigen, daß auch die unmittelbar angewendete Polarographie für die Nebeneinanderbestimmungen ungeeignet ist.

Zur Lösung dieses Problems haben wir eine kombinierte chromatographisch-polarographische Methode gewählt. Zur Trennung verschiedener organischen Nitroverbindungen hat Kemula[18,20,21] erfolgreich sein sogenanntes chromatopolarographisches Verfahren eingeführt. Dabei erfolgt die chromatographische Trennung an einer mit Gummipulver gefüllten Säule[19], und das Eluat wird kontinuierlich einer zweckmäßig ausgebildeten polarographischen Zelle zugeführt. Das Potential der tropfenden Elektrode wird hierbei nicht, wie bei der gewöhnlichen Polarographie, laufend verändert, sondern auf einen konstanten, dem Grenzstrom der untersuchten Verbindung entsprechenden Wert eingestellt. Der Polarograph selbst wird in diesem Falle als Registrierapparat verwendet, der die Elutionskurve in Abhängigkeit von der Zeit, bzw. der durchströmten Menge des Eluats aufzeichnet.

Da Gummipulver schwer zugänglich und seine Qualität kaum kontrollierbar ist (Vulkanisationsgrad usw.) suchten wir nach anderen geeigneten Materialien. Nach einigen erfolglosen Versuchen mit Glaspulver[25] und mit hydrophobem, mit Silicon behandeltem Glaspulver, wurde nach dem Vorschlag von Wiss u. Gloor[31] fein verteiltes Polyäthylen angewendet*.

Nach einer Reihe von Versuchen mit verschiedenen Lösungsmittelgemischen wurde die mobile Phase so gewählt, daß ihre Zusammensetzung ähnlich der bei der Polarographie bewährten oben beschriebenen äthylalkoholisch-acetatischen Grundlösung war. Als stationäre Phase diente Cyclohexan. Die Anwesenheit der in der Literatur empfohlenen chlorierten Kohlenwasserstoffe[31] war nicht erwünscht, da sie beim Polarographieren störend wirkten.

Das schließlich angewandte Lösungsmittelgemisch hat folgende Zusammensetzung: 245 ml 0,4 m Essigsäure, 245 ml 0,2 m Natriumhydroxydlösung, 10 ml 0,15%ige Tyloselösung, 500 ml 96%iger Äthylalkohol, 100 ml Cyclohexan.

* Das angewandte Niederdruck-Polyäthylen (Hostalen „S") hat die Firma Farbwerke Hoechst A.G., Frankfurt am Main, liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt, wofür ich auch hier meinem Dank Ausdruck gebe.

Nach gründlichem Durchschütteln wartet man genügend lang, am besten über Nacht, bis sich die Phasen entmischen. Der Äthylalkoholgehalt der „wäßrigen" Phase wird willkürlich als 48%ig angesehen, ohne darauf Rücksicht zu nehmen wie sich der Äthylalkohol tatsächlich zwischen beiden Phasen verteilt. Im folgenden wurden in ähnlicher Weise Mischungen mit einem nominellen 44- und 42%igen Alkoholgehalt hergestellt, wobei ein Teil des Alkohols durch Wasser ersetzt wurde.

Das zur Chromatographie benutzte Glasrohr war 60 cm lang, mit einem inneren Durchmesser von 12 mm. Am unteren Ende des Rohres wurde eine ungefähr 5 mm hohe Baumwollschicht angebracht. 10 g Hostalen „S"-Pulver wurde mit 3 ml stationärer Phase gründlich vermischt und mit einer größeren Menge mobiler Phase in das Rohr gespült. Danach wurde am oberen Ende des Rohres ebenfalls eine 5 mm dicke Baumwollschicht mit Hilfe eines Glasstabes vorsichtig eingeführt. Die vollständige Packung der Säule wurde ohne Anwendung von äußerem Druck, lediglich durch das eigene Gewicht des Glasstabes durchgeführt; dazu waren ungefähr 30 min nötig. Während dieser Manipulation mußte darauf geachtet werden, daß über der Säule immer eine genügend hohe Schicht an mobiler Phase verblieb, um zu verhüten, daß Luftbläschen in die Säule gelangten.

Die Ausbildung der polarographischen Zelle, sowie das Zusammenstellen des Gerätes sind aus Abb. 8 ersichtlich. Die aus der Zelle strömende Flüssigkeit wird mit Hilfe eines Meßzylinders gemessen. Bei einer Säule der oben beschriebenen Zusammensetzung und Dimension beträgt die Durchflußgeschwindigkeit ungefähr 1 ml/min.

Die Lösung der zu untersuchenden Substanz und die mobile Phase sollen in bezug auf das Alkohol- und den Puffergehalt möglichst übereinstimmen, da sonst die Elutionskurve bedeutende Störungen aufweist. Wenn also die oben beschriebene mobile Phase angewandt wird, gibt man zu 1 ml der alkoholischen Stammlösung der zu untersuchenden Probe 1 ml Acetatpuffer und bringt einen aliquoten Teil der so erhaltenen Lösung auf die Säule.

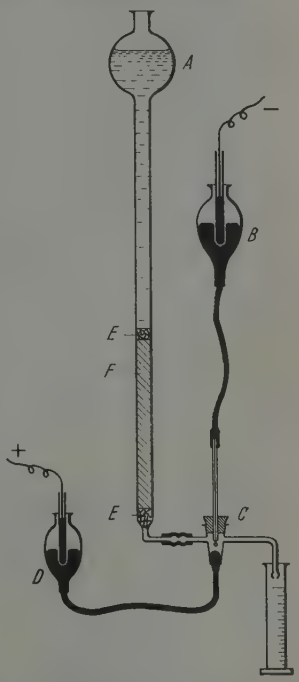


Abb. 8. Einrichtung zur Chromatographie mit laufender polarographischen Kontrolle. *A* Behälter der mobilen Phase; *B* Quecksilberbehälter; *C* Zelle zur Polarographie; *D* Quecksilberniveaugefäß; *E* Watteschicht; *F* Hostalensäule

Die auf die Säule aufgebrachte Substanzmenge darf die einzelnen zu bestimmenden Bestandteile in einer Menge von 0,1—10,0 mg enthalten. Die Aufbringung selbst geschieht in der Weise, daß man die Durchsickerung der über der Säule befindlichen mobilen Phase bis zu dem Punkte abwartet, bis die die Säule oben abgrenzende Baumwollschicht von Flüssigkeit nicht mehr bedeckt ist. In diesem Augenblick wird die höchstens 1 ml betragende Lösung der Probe mit einer Pipette zugefügt. Zur selben Zeit wird unter die Ausflußöffnung der polarographischen Zelle ein Meßzylinder gestellt: von da an mißt man die Menge der durchfließenden

Flüssigkeit. Nun läßt man die Musterlösung in die Säule sickern und wäscht mit zweimal 0,5 ml mobiler Phase nach. Danach wird das Glasrohr mit mobiler Phase gefüllt und die Aufnahme der Elutionskurve begonnen.

Diese Aufnahme wird in der Weise durchgeführt, daß man den Schleifkontakt des Polarographen auf −1200 mV einstellt und die Kupplung der Widerstandstrommel ausschaltet, so daß der Motor des Polarographen nur die Phototrommel antreibt. Da die Aufnahme solcher Kurven ziemlich lange dauert, ist zu solchen Zwecken der Polarograph Typ LP 55A, System HEYROVSKÝ, sehr gut geeignet, weil dieses Gerät auch so einstellbar ist, daß eine Umdrehung der Phototrommel 200 min lang dauert.

Die anzuwendende Galvanometerempfindlichkeit hängt von der Menge der einzelnen zu bestimmenden Komponenten ab. Zur Orientierung kann mitgeteilt werden, daß bei einer absoluten Galvanometerempfindlichkeit $1{,}3 \cdot 10^{-9}$ Amp/mm und bei Estermengen von ungefähr 0,5 mg eine Empfindlichkeit von $^1/_{30}$ dem Zwecke entspricht. Viel höhere Galvanometerempfindlichkeit kann nicht angewandt werden, da zur Entfernung des gelösten Sauerstoffes aus der Lösung bei der angegebenen Zusammenstellung des Apparates keine Möglichkeit besteht und daher die „Grundlinie" der Elutionskurven von der Grundstellung des Galvanometers in dem Maße abweicht als höhere Empfindlichkeit benutzt wird.

Nach der Aufnahme der vollständigen Elutionskurve ist die Säule zu einer neuen Untersuchung unmittelbar bereit.

Die mit der chromatographisch-polarographischen Methode erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 2 angeführt. In der Tabelle sind die Verbindungen in der Reihenfolge aufgenommen, in der sie auf der Elutionskurve erscheinen, was auch ungefähr der Reihenfoge der steigenden Unlöslichkeit

Tabelle 2. *Reihenfolge und Erscheinungsbereich der untersuchten Verbindungen bei der Chromatographie an einer 10 g-Hostalen-Säule*

Mobile Phase: 48% Äthylalkohol und Acetatpuffer; stationäre Phase: Cyclohexan. $\Delta E_{1/2}$ = Differenz der $E_{1/2}$-Werte (siehe Text)

Substanz	Erscheinungsbereich ml	$\Delta E_{1/2}$ mV
p-Nitrophenol	13—16	45
3-Cl-4-Nitrophenol	13—16	40
4-Cl-3-Nitrophenol	13—16	45
2-Cl-4-Nitrophenol	13—16	40
2-Br-4-Nitrophenol	13—16	40
E 600	15—20	50
Methyl-E 605	20—27	70
Chlorthion	30—38	65
Isochlorthion	30—42	75
isomeres Chlorthion	40—55	100
Bromthion	40—55	105
E 605	50—70	95

in der wäßrigen Phase entspricht. Die $\Delta E_{1/2}$-Werte der 3. Spalte der Tabelle bedeuten die Differenz zwischen den polarographischen $E_{1/2}$-Werten von Lösungen der Konzentrationen $1{,}5 \cdot 10^{-3}$ m, und $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ m (siehe Tab. 1). Diese Differenz ist der polarographischen Irreversibilität

proportional. Es ist bemerkenswert, daß der Grad der Unlöslichkeit in wäßrigem Milieu und der der Irreversibilität, zumindest bei den von uns untersuchten Verbindungen eine gewisse Parallelität zeigt. Es wäre wert, diese Erscheinung einer eingehenderen Untersuchung zu unterziehen.

Die aus 10 g Hostalenpulver bestehenden Säulen fassen ungefähr 12 ml mobile Phase. Man kann also aus den Werten der Tab. 2 schließen, daß die untersuchten Nitrophenole unbehindert die Säule passieren, ihre Fraktionierung daher unter diesen Bedingungen nicht möglich ist. Auch die Passage von E 600 ist kaum behindert. Die Trennung der übrigen Ester gelingt besonders bei dem Paar E 605-Methyl-E 605 gut, was darum wertvoll ist, weil die beiden Stoffe in technischen Präparaten nebeneinander vorkommen können.

Tabelle 3. *Das Erscheinungsbereich einiger untersuchter Verbindungen im Eluat in Abhängigkeit von der angewandten Alkoholkonzentration*

Substanz	Äthylalkohol-Konzentration		
	48%	44%	42%
Nitrophenole	13—16	13—16	13—16
Methyl-E 605	20—27	25—45	30—48
Chlorthion	30—38	45—75	55—85
Isochlorthion	30—42	45—75	55—85
isomeres Chlorthion	40—55	70—95	80—100
E 605	50—70	100—145	120—170

Die chromatographische Fraktionierung kann durch die Verminderung des Äthylalkoholgehaltes der mobilen Phase weiter verbessert werden. Die diesbezüglichen Werte sind in der Tab. 3 veranschaulicht. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß eine verhältnismäßig kleine Veränderung des Alkoholgehaltes einen großen Einfluß auf die Durchflußgeschwindigkeit der einzelnen Verbindungen ausübt. Die mit 48, 44 und 42% Alkohol enthaltender mobiler Phase entwickelten Elutionskurven sind in Abb. 9, 10 und 11 (S. 252) wiedergegeben.

An Elutionskurven, die man unter gleichen Verhältnissen aufgenommen hat, sind die Flächen unter den den einzelnen Komponenten entsprechenden Wellen der Menge dieser Komponenten proportional. Bei der quantitativen Analyse von Mischungen wird so verfahren, daß man in der im Abschnitt B dieser Veröffentlichung beschriebenen Weise polarographisch die Summe der Komponenten und die gegebenenfalls anwesenden Nitrophenole bestimmt und dann eine Elutionskurve aufnimmt, deren Auswertung das mengenmäßige Verhältnis der einzelnen Komponenten angibt.

Die angeführten Betrachtungen gelten für reine Wirkstoffe, Orientierungsversuche haben aber ergeben, daß auch technische Präparate in derselben Weise analysierbar sind.

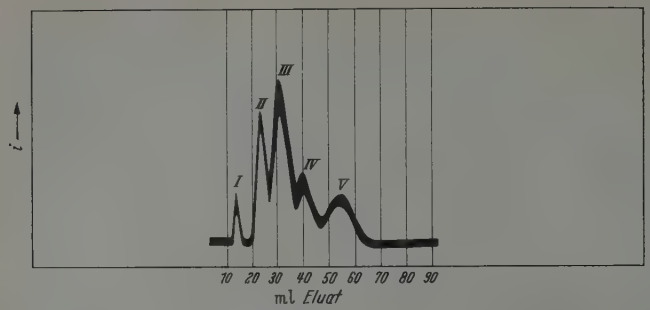


Abb. 9. Elutionskurve aus 1 ml einer Lösung die $0{,}5 \cdot 10^{-2}$ m der einzelnen Bestandteile enthält. Mobile Phase: Acetatpuffer und 48% Äthylalkohol. Die einzelnen Wellen bedeuten: *I* Nitrophenole, die als Verunreinigung anwesend sind. *II* Methyl-E 605. *III* Chlorthion + Isochlorthion. *IV* Isomeres Chlorthion. *V* E 605. Galvanometerempfindlichkeit: $^1/_{50}$.

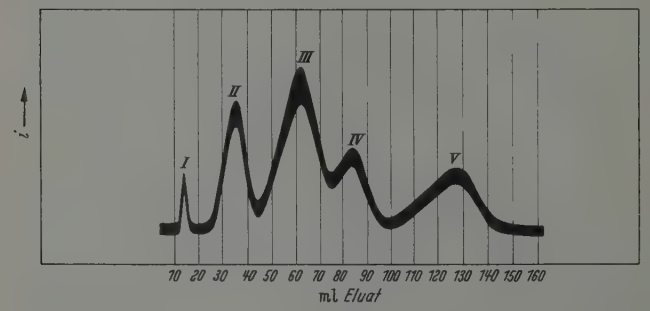


Abb. 10. Untersuchungslösung und Bedingungen wie bei Abb. 9., Alkoholgehalt jedoch 44%

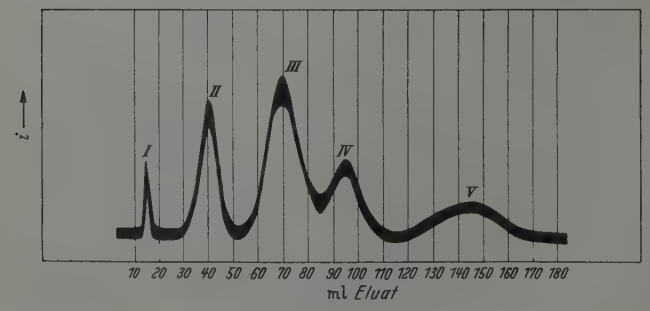


Abb. 11. Untersuchungslösung und Bedingungen wie bei Abb. 9., Alkoholgehalt jedoch 42%

Zusammenfassung

Es werden die UV-Spektren sowie die polarographischen Kennzahlen einer Reihe von insecticiden Thiophosphatester-Wirkstoffen und ihrer Hauptzersetzungsprodukte, der Nitrophenole, angegeben. Eine neue kombinierte säulenchromatographisch-polarographische Methode wird zur Trennung und Bestimmung der Ester eingeführt. Die Untersuchungen sind mit reinen Substanzen angestellt, aber Orientierungsversuche ergeben, daß technische Präparate mit den angegebenen Methoden auch untersucht werden können.

Literatur

[1] Averell, P. R., u. M. V. Norris: Analyt. Chemistry **20**, 753 (1948); vgl. auch diese Z. **133**, 237 (1951). — [2] Biggs, A. T.: Analyst **80**, 279 (1955); vgl. diese Z. **150**, 48 (1956). — [3] Bowen, C. V., u. F. Edwards jr.: Analyt. Chemistry **22**, 706 (1950); vgl. diese Z. **133**, 237 (1951). — [4] Buckley, R., u. J. P. Colthurst: Analyst **79**, 285 (1954); vgl. diese Z. **144**, 296 (1955). — [5] Carter, P. R.: J. Sci. Food. Agric. **5**, 457 (1954). — [6] Clifford, P. A.: J. Assoc. off. agric. Chemists **34**, 533 (1951). — [7] Cook, J. W.: J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 561 (1954); **38**, 150 (1955); vgl. diese Z. **148**, 446 (1955/56). — [8] Dénes, A., u. G. Botond: Nahrung **2**, 493 (1958). — [9] Dénes, A., u. V. Cieleszky: Élelmiszervizsg. Közl. **3**, 245 (1957). — [10] Gage, J. C.: Analyst **75**, 189 (1950); **77**, 123 (1952); vgl. diese Z. **133**, 237 (1951); **139**, 310 (1953). — [11] Gersmann, H. R.: Physisch-Chemische Metingen aan Organische Phosphor Verbindingen, Diss. Amsterdam, 1956. — [12] Giang, P. A.: J. Assoc. off. agric. Chemists **38**, 292 (1955). — [13] Giang, P. A., u. S. A. Hall: Analyt. Chemistry **23**, 1830 (1951); vgl. diese Z. **136**, 457 (1952). — [14] Hjelt, E., u. A.-L. Mukula: Analyst **83**, 283 (1958); vgl. diese Z. **167**, 77 (1959). — [15] Holleck, L., u. G. A. Melkonian: Naturwissenschaften **41**, 304 (1954); vgl. diese Z. **153**, 274 (1956). — [16] Josepovits, Gy., u. K. G. Privitzer: Magyar Kémiai. Folyóirat **59**, 161 (1953); vgl. diese Z. **144**, 72 (1955). — [17] Karlog, O.: Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **14**, 92 (1957). — [18] Kemula, W.: Roczniki Chem. **26**, 281, 694, 696 (1952). — [19] Kemula, W., u. K. Butkiewicz: Chem. analit. (Warschau) **1**, 56 (1956); vgl. diese Z. **163**, 124 (1958). — [20] Kemula, W., u. A. Krzemińska: Chem. analit. (Warschau) **1**, 29 (1956); vgl. diese Z. **163**, 124 (1958). — [21] Kemula, W., D. Sybilska u. J. Geisler: Chem. analit. (Warschau) **1**, 36 (1956); vgl. diese Z. **163**, 124 (1958). — [22] Ketelaar, I. A. A.: Recueil. Trav. chim. Pay-Bas **69**, 649 (1950). — [23] Ketelaar, I. A. A., u. I. E. Hellingman: Analyt. Chemistry **23**, 646 (1951); vgl. diese Z. **135**, 146 (1952). — [24] Mühlmann, R., u. G. Schrader: Z. Naturforsch. **12b**, 196 (1957). — [25] Partridge, M. W., u. J. Chilton: Nature (London) **167**, 79 (1951). — [26] Schönamsgruber, M.: diese Z. **135**, 23 (1952). — [27] Schrader, G.: Angew. Chem. **66**, 265 (1954). — Die Entwicklung neuer Insekticide auf Grundlage organischer Fluor- und Phosphor-Verbindungen. 2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1952. — [28] Stocesova, D.: Collect. czechoslov. chem. Commun. **14**, 615 (1949). — [29] Toubol, V.: Ann. Falsificat. Fraudes **50**, 336 (1957); vgl. diese Z. **167**, 218 (1959). — [30] Williams, E. F.: Ind. Engng. Chem. **43**, 950 (1951). — [31] Wiss, O., u. U. Gloor: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 260 (1958). — [32] Zeumer, H., u. W. Fischer: diese Z. **135**, 401 (1952).

Dr. E. Sándi, Budapest IX., Gyáli ut 3/A, (Ungarn)

Biologische Fakultät der Karls-Universität Prag, ČSR

Bestimmung der Nitrate im Wasser

Von

L. Procházková

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Dezember 1958)

Ein empfehlenswertes Verfahren zur Bestimmung kleiner Nitratmengen besteht darin, daß man das Nitrat zu Nitrit reduziert und dieses nach seinen sehr empfindlichen und spezifischen Farbreaktionen erfaßt. Die Ausbeuten bei der Nitratreduktion zu Nitrit sind allerdings bei den älteren Arbeitsweisen gering, da sich die Reduktion mit Zink[1] oder Blei[2] schwer auf der Nitritstufe anhalten läßt.

Mullin u. Riley[3] haben durch Reduktion mit Hydrazin in Gegenwart von Kupfer(II)-salz als Katalysator in dem schwach alkalischen Milieu des Phenolatpuffers eine bedeutende Verbesserung der Nitritausbeute erzielt. Der Hydrazinüberschuß wird mit Aceton gebunden, dann erfolgt die photometrische Nitritbestimmung mit α-Naphthylamin-Sulfanilsäure. Das Verfahren wird zur Bestimmung von Nitrat im Meerwasser empfohlen. Dabei stören ursprünglich vorhandene Nitrite, die während des Reduktionsvorganges mehr oder weniger weiter reduziert werden, sowie suspendierte Stoffe, die die Reduktion stark behindern.

Bei Anwendung der Methode auf Süßwasser mit höherer Carbonathärte ergibt sich nach unseren Versuchen eine weitere Schwierigkeit durch das Ausfallen der Härtebildner in der alkalischen Lösung. Die Analysenergebnisse sind stark schwankend. Versuche, die Bildung der Niederschläge durch Maskierungsmittel (ÄDTA) zu verhindern, hatten keinen Erfolg, da dabei auch das Kupfer komplex gebunden und damit katalytisch unwirksam wird. Dagegen erweist sich die Anwendung eines Kationenaustauschers in der Na-Form als sehr zweckmäßig. Der Austauscher entfernt nicht nur Ca- und Mg-Ionen, sondern auch in der Probe etwa vorhandene Cu-Ionen. Dadurch ergeben sich besser reproduzierbare Bedingungen für die spätere Reduktion, da dann eine definierte Menge des Katalysators in Form von $CuSO_4$-Lösung zugesetzt werden kann.

Der von Mullin u. Riley[3] vorgeschlagene Phenolatpuffer muß täglich frisch bereitet werden, oft tritt auch schon während der Reduktion Braunfärbung auf. Wir versuchten deshalb, den Phenolatpuffer durch einen Salicylatpuffer zu ersetzen, was sich aber als unbrauchbar erwies,

da wegen der Komplexbildung des Kupfers die Nitratreduktion unterblieb. Es zeigte sich schließlich, daß man auch ohne Pufferzusatz auskommen kann, wenn man die Lösung mit 1 n Natronlauge stark alkalisch macht (p_H 12,3). Die Reduktion geht auch in diesem Falle mit guter Nitritausbeute vor sich, außerdem beschleunigt das Erhöhen des p_H-Wertes die Reaktion beträchtlich. Während bei p_H 9,6 zur Reduktion 24 Std erforderlich sind[3], kommt man bei p_H 12,3 mit 30 min aus.

Zur Beseitigung der störenden Trübungen der Wässer durch suspendierte Stoffe filtrieren Mullin u. Riley[3] die Probe durch dichtes Filtrierpapier. Es ist uns aber nicht gelungen, bei stark verunreinigten Wässern auf diese Art mit Hilfe von Blaubandfilter, Whatman-Papier Nr. 2 oder auch mit Glasfritten (Jena G 5) absolut klare Filtrate zu erhalten. Die Nitratbestimmungen fielen zu niedrig aus. Wir stellten weiter fest, daß nicht nur feine Trübungen sondern auch in Lösung befindliche hochmolekulare Stoffe (Polyvinyl-N-pyrrolidon) die Nitratbestimmung empfindlich stören und zu niedrige Resultate veranlassen. Nachdem sich die Entfernung der Störstoffe durch Koagulation als unzweckmäßig erwiesen hatte, gingen wir zur Filtration durch Adsorptionssäulen über. Von den in Betracht gezogenen Adsorptionsstoffen Cellulosepulver, Kieselgur, Aluminiumoxyd und Aktivkohle hat die Aktivkohle die besten Resultate ergeben (vgl. auch Tab. 1).

Tabelle 1. *Vergleich der Wirksamkeit verschiedener Adsorbentien*

Angewendet	gefunden
Wasser ohne Behandlung	14% der zugegebenen Menge NO_3^-
Wasser nach Filtration durch Kieselgur	30% der zugegebenen Menge NO_3^-
Wasser nach Filtration durch Cellulosepulver	42% der zugegebenen Menge NO_3^-
Wasser nach Filtration durch Glasfritte G5	56% der zugegebenen Menge NO_3^-
Wasser nach Filtration durch Aluminiumoxyd	72% der zugegebenen Menge NO_3^-
Wasser nach Filtration durch behandelte Aktivkohle	84% der zugegebenen Menge NO_3^-

Bei Anwendung feinkörniger Aktivkohle (Korndurchmesser 0,2 bis 0,5 mm) verläuft die Filtration schnell und die Wasserproben sind vollkommen klar, was man bei den anderen hydrophilen Adsorbentien nur schwer erreicht. Alle Arten von Aktivkohle, die uns zur Verfügung standen, enthielten sehr beträchtliche Mengen von Nitraten, die durch intensives Durchspülen mit dest. Wasser nicht entfernt werden konnten. Nitratfreie Kohlen ergaben sich aber leicht, indem man die Handelsprodukte längere Zeit in CO_2-Atmosphäre auf Rotglut erhitzte. Diese gereinigten Kohlen entfernten aus dem Wasser alle Störstoffe, sie hielten aber auch das vorhandene Nitrat weitgehend zurück. In einer Lösung

mit 0,04 mg NO_3-N/l wurden z. B. nach Durchgießen durch eine Aktivkohlensäule (Höhe 5 cm, Durchmesser 1,5 cm) keine Nitrate mehr gefunden. Die Aktivkohle mußte also derart desaktiviert werden, daß sie die Nitrate nicht absorbierte, die Adsorptionsfähigkeit für hochmolekulare Stoffe aber beibehielt. Wir führten die Inaktivierung mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln durch, deren Wirksamkeit in der nachstehenden Reihenfolge niedriger wurde: n-Hexan, Cyclohexan, Toluol, Benzol, Äther, Äthanol.

Eine mit n-Hexan behandelte und dann mit 80°C warmen redest. Wasser gewaschene Aktivkohle absorbierte kein Nitrat mehr und hatte eine nur wenig verminderte Fähigkeit, die störenden Makromoleküle zurückzuhalten.

Bei der Mehrzahl der natürlichen Wässer wurde nach Behandeln mit so zubereiteter Aktivkohle die ganze zugegebene Menge der Nitrate gefunden. Bei Wässern mit extrem hohem Gehalt an störenden Stoffen (Tab. 1) in denen vor der Behandlung nur etwa 10% der zugegebenen Nitratmenge gefunden wurden, ergaben sich nach Behandlung mit Aktivkohle 80—90% dieser Menge. Bei Wässern dieser Art muß man das Ergebnis nach den gefundenen Prozenten der zugegebenen Nitratmengen korrigieren.

Die Notwendigkeit, die störenden Stoffe zu entfernen, kommt übrigens nur für Wässer mit sehr niedrigem Inhalt an Nitratstickstoff (bis 0,1 mg NO_3-N/l) in Frage, bei Wässern mit höherer Konzentration kann man die Proben durch redest. Wasser vor der Reduktion verdünnen, wodurch die Konzentration der störenden Stoffe meist auf unschädliche Werte sinkt.

Bei 10facher Verdünnung fanden wir bei den Wässern, die wir laufend analysieren, immer die ganze zugegebene Menge der Nitrate ohne spezielles Entfernen der störenden Stoffe (die Proben wurden nur durch Blaubandfilter [Schl. & Sch.] filtriert).

Versuchsteil

Methodik. Extinktionsmessungen erfolgten mit dem Zeiss-Pulfrich-Photometer bei der Wellenlänge 533 mμ (Filter S 53).

Reduktion von Nitrat

Einfluß der Zeit. Die Versuche wurden im wesentlichen nach der Arbeitsvorschrift S. 259 mit reinen Kaliumnitratlösungen ausgeführt. Die Lösungskonzentration betrug 40 μg NO_3-N/l, die Temperatur 28°C. Wie man aus den in Abb. 1 wiedergegebenen Versuchsergebnissen erkennt, ist die Reduktion in etwa 30 min beendet. Die Nitritausbeute beträgt etwa 92% des theoretischen Wertes.

Da die optimale Zeit der Reduktion bei Verwendung einer konstanten Menge von Hydrazin mit der Konzentration des Nitrations wächst, krümmt sich die Eichkurve ein wenig bei Konzentrationen über 0,1 mg NO_3-N/l (vgl. Abb. 2). Durch entsprechendes Verdünnen vor der Reduktion kann man die Probe immer auf lineares Gebiet überführen.

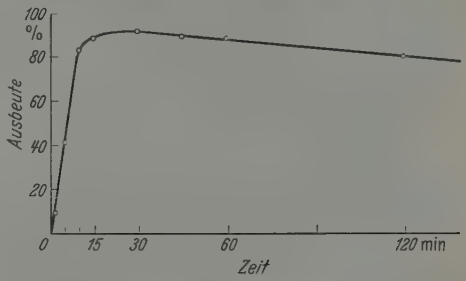


Abb. 1. Abhängigkeit des Ergebnisses der Reduktion von der Zeit bei 28° C und p_H 12,3 für eine Konzentration von 0,04 mg NO_3-N/l

Einfluß der Temperatur. Wie man aus Abb. 2 entnehmen kann, ist der Einfluß der Temperatur vor allem bei höheren Nitratkonzentrationen stark, deshalb ist es notwendig, die Temperatur während der Reaktion konstant zu halten. Die Ergebnisse sind dann vollkommen reproduzierbar. Wir haben für die Nitratbestimmungen die Temperatur von 28° C gewählt, damit sich die Proben nach dem Herausnehmen aus dem Thermostaten und Zugeben der Reagentien auf die Temperatur von 20°C einstellen, bei der dann im Meßkolben aufgefüllt wird.

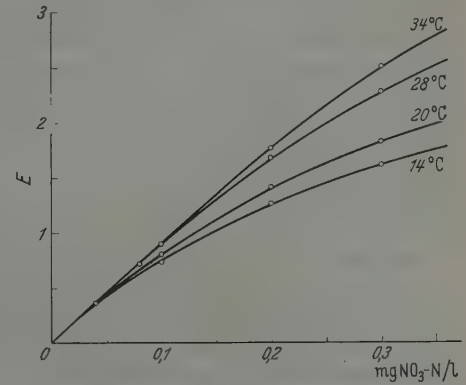


Abb. 2. Abhängigkeit des Verlaufes der Eichkurven von der Temperatur. (Die Extinktionen sind für 5 cm-Küvetten angegeben)

Mit dem Erhöhen der Temperatur steigt auch die Reaktionsgeschwindigkeit (Ausbeute der Reaktion), der Umfang der Linearität verschiebt sich mit steigender Temperatur zu höheren Konzentrationen.

Einfluß des Acetons

Um das durch die Reaktion nicht verbrauchte Hydrazin zu binden, genügt nach unseren Versuchen die Zugabe von 0,5 ml Aceton auf 40 ml Probe. Auch diese erniedrigte Menge (in der Arbeit von Mullin u. Riley[3] werden 2 ml gebraucht) stellt einen mehrfachen molaren Überschuß gegenüber der anwesenden Menge von Hydrazin dar. Nach unseren

Feststellungen enthält auch ein sorgfältig gereinigtes Aceton geringe Mengen eines Stoffes, der mit salpetriger Säure reagiert und so die Extinktion der erhaltenen Lösung erniedrigt. Auch aus diesem Grunde ist es zweckmäßig, die Menge des zugegebenen Acetons einzuschränken.

In 40 ml einer Lösung mit 0,04 mg NO_3N/l ergab sich bei Zugabe von 0,5 ml von nach S. 259 gereinigtem Aceton eine Extinktion der Farblösung von 0,36. Bei Zugabe von 2 ml des gleichen Acetons betrug die Extinktion nur 0,32, mit 2 ml einmal destilliertem Handelsaceton sank sie auf 0,08, mit 2 ml nicht destilliertem Handelsaceton auf 0,02.

Die Reinheit des Acetons und die Art seiner Reinigung sind also sehr wichtig. Wir haben in allen weiter angegebenen Bestimmungen 0,5 ml sorgfältig nach S. 259 gereinigtes Aceton auf 40 ml Probe verwendet.

Analyse eines Gemisches von Nitrit und Nitrat

Nach den Angaben von Mullin u. Riley (vgl. S. 254) stören Nitrite die Nitratbestimmung, wenn die Reduktion mit Hydrazin im Phenolatpuffer (p_H 9,6) durchgeführt wird, da es zu einer mehr oder minder weitgehenden Umsetzung der Nitrite kommt und die endliche Extinktion nicht der Summe des Nitrat- und Nitritstickstoffes entspricht. Bei der Reduktion in der von uns verwendeten alkalischen Lösung verläuft aber nach unseren Versuchen die weitere Reduktion der Nitrite sehr langsam. Sie kann für die zur Reaktion benötigte Zeit von 30 min fast vernachlässigt werden.

Bei einer Lösungskonzentration von 0,2 mg NO_2-N/l sank z. B. die gemessene Extinktion innerhalb von 30 min von dem Anfangswert 0,42 auf 0,40. Nach 90 und 180 min wurden die Werte 0,36 bzw. 0,31 gemessen.

Die dem angewendeten Nitrit entsprechende Extinktion ist bei Anwesenheit aller Reagentien, die zur Reduktion der Nitrate benützt werden, kleiner als die Extinktion ohne diese Reagentien. Ein kleiner Teil dieser Extinktionsminderung ist auf das Aceton zurückzuführen; Natronlauge ist ohne Einfluß. Die Hauptursache der Extinktionsminderung ist das Hydrazin, auch bei Anwesenheit von Aceton. Das kann dadurch erklärt werden, daß auch das Hydrazon des Acetons $(CH_3)_2C = N \cdot NH_2$ mit salpetriger Säure reagiert, wenn auch in kleinerem Maße als das freie Hydrazin.

Eine Lösung mit 0,08 mg NO_2-N/l ergab sowohl bei unmittelbarer Messung als auch in Anwesenheit von 1 n Natronlauge (5 cm-Küvette) eine Extinktion von 0,95, in Anwesenheit von 0,5 ml Aceton 0,93, in Anwesenheit von Hydrazin 0,73, bei der gleichzeitigen Anwesenheit aller Reagentien 0,78. Die Reagentien wurden in denselben Mengen wie bei der Reduktion der Nitrate zugegeben.

Der Extinktionswert einer Mischung von Nitrat und Nitrit ist bei unserer Arbeitsweise gleich der Summe der Extinktionen der Bestandteile, wenn man für Nitrit jenen Wert einsetzt, der in der Nitritlösung

in Anwesenheit aller bei der Nitratreduktion benutzten Reagentien erhalten wird. Tab. 2 zeigt dies an einigen Beispielen.

Tabelle 2

mg NO_3-N/l	mg NO_2-N/l	Verhältnis	errechnete Summe der Extinktionen	gefundener Wert der Extinktionen
0,02	0,04	0,5:1	0,580	0,575*
0,04	0,04	1:1	0,760	0,760
0,08	0,04	2:1	1,11	1,10
0,16	0,04	4:1	1,77	1,77
0,04	0,02	1:0,5	0,565	0,570
0,04	0,08	1:2	1,15	1,16
0,04	0,16	1:4	1,93	1,95

* Die angegebenen Extinktionen sind Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen. Die Extinktionen sind in 5 cm-Küvetten gemessen oder auf diese umgerechnet.

Nitrite müssen also vor der Reduktion nicht aus der Lösung entfernt werden.

Arbeitsvorschrift

Reagentien und Lösungen. *1. Katalysator.* Lösung von 0,0393 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ in 100 ml Wasser.

2. Hydrazinsulfatlösung enthält 1,2 g Hydrazinsulfat p.a. in 250 ml Wasser.

3. Reduktionsgemisch. 25 ml Lösung (2) und 5 ml Lösung (1) werden gemischt und auf 50 ml aufgefüllt. Das Gemisch muß täglich frisch bereitet werden.

4. Sulfanilsäurelösung. Man löst 0,3 g Sulfanilsäure in 80 ml Wasser, versetzt mit 12,9 ml konzentrierter Salzsäure und füllt mit Wasser auf 100 ml auf.

5. α-Naphthylaminlösung. Man löst 0,6 g umkristallisiertes α-Naphthylaminhydrochlorid in 80 ml Wasser, die 1 ml konzentrierte Salzsäure enthalten, und füllt mit Wasser auf 100 ml auf.

6. Natriumacetatlösung. 27,2 g Trihydrat werden in Wasser zu 100 ml gelöst. Die Lösungen 2, 5 und 6 werden durch Glasfritten (Jena G4) filtriert.

7. Aceton. Destilliertes Aceton wird 1 Std mit Kaliumpermanganat gekocht und dann wieder auf der Destillationskolonne (10 TB) destilliert.

8. Kaliumnitratstandardlösung. Die Lösung enthält 0,716 g KNO_3 p.a. im Liter (0,1 mg NO_3-N/ml). Die Lösung wird durch einen Zusatz von Toluol stabilisiert.

9. Kationenaustauscher (Katex). Der Austauscher Wofatit K in der Na-Form wird in einer Säule von 5 cm Höhe und 1,5 cm Durchmesser angewendet.

10. Aktivkohle. Norit, granuliert, wird auf einen Korndurchmesser von 0,2—1 mm gemahlen und dann in CO_2-Atmosphäre bei Rotglut ausgeglüht. Die Säulendimensionen sind auch hier 5 × 1,5 cm.

Weiter werden benötigt *1 n Natronlauge, n-Hexan* p.a., *Filtrierpapier* und *Watte* (mit heißem Wasser gewaschen). Das zur Herstellung der Lösungen, zum Waschen usw. benutzte Wasser muß aus alkalischer Lösung in einer Glasapparatur redestilliert sein.

Bestimmung. Die Wasserprobe wird durch die Katexsäule gefiltert oder auf eine kombinierte Säule Aktivkohle-Katex aufgegeben. Die Aktivkohle wird unmittelbar in der Säule durch n-Hexan desaktiviert (vgl. S. 256). Nach dem Waschen mit heißem Wasser wird der Austauscher aufgeschichtet und das Ganze mehrmals mit Wasser durchgewaschen. Meist genügt die Anwendung der Katexsäule allein. Wässer, die maximal 0,5 mg NO_3-N/l enthalten, kann man ohne vorhergehende Verdünnung verarbeiten; es ist aber besser, schon bei Konzentrationen über 0,1 mg NO_3-N/l vor der Reduktion zu verdünnen.

Die ersten Anteile (50 ml) des aus der Säule fließenden Filtrates werden verworfen; man fängt dann 40 ml für die eigentliche Bestimmung und weitere 40 ml für die Blindprobe auf; die Blindprobe erhält alle Reagentien außer der α-Naphthylaminlösung. Gleichzeitig mit jeder Serie von Bestimmungen wird eine Kontrollbestimmung mit dem Standard durchgeführt. Außer dem vorstehend angegebenen Blindversuch, durch den die Eigenfärbung des Wassers kompensiert werden soll, ist noch ein Blindversuch auszuführen, um die Reinheit der benutzten Reagentien zu prüfen (redestilliertes Wasser und alle Reagentien).

Zur eigentlichen Bestimmung versetzt man 40 ml der filtrierten Probe im 50 ml-Meßkolben mit 1 ml 1 n Natronlauge, beläßt 30 min im Thermostaten bei 28° C, fügt 1 ml Reduktionsgemisch zu und gibt für weitere 30 min in den Thermostaten. Es folgen Zusätze von 0,5 ml Aceton, nach 5 min von 2,1 ml Sulfanilsäurelösung und nach weiteren 5 min von 1 ml Naphthylaminlösung und 1 ml Natriumacetatlösung. Man rührt nach Zugabe jedes Reagenses gut um, füllt dann zur Marke auf und mißt die erhaltene Färbung nach 15 min bei 533 mμ. Bei höheren Nitratkonzentrationen muß die Messung spätestens nach 30 min erfolgen, da sonst die Möglichkeit besteht, daß der Azofarbstoff aus der Lösung ausfällt. Man kann ohne Verdünnung bei Benutzen einer 1 cm-Küvette Konzentrationen bis 0,5 mg NO_3-N/l bestimmen; die kleinste erfaßbare Konzentration beträgt 0,002 mg NO_3-N/l (bei Anwendung einer 10 cm-Küvette). Die mittlere quadratische Abweichung vom Mittelwert im Bereich 0,01—0,4 mg NO_3-N/l ist ± 1,8%.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren der Nitratbestimmung beschrieben, das auf der Reduktion zu Nitrit mit Hydrazin in Anwesenheit von Kupferion als Katalysator beruht. Das Nitrit wird mit Sulfanilsäure-α-Naphtylamin photometrisch erfaßt. Die Reduktion verläuft bei p_H 12,3 und 28°C in der Zeit von 30 min mit hohen Nitritausbeuten.

Kationen, die das Entstehen von Niederschlägen in alkalischer Lösung verursachen würden, entfernt man durch einen Kationenaustauscher in der Natriumform. Störungen durch suspendierte oder kolloid gelöste Stoffe werden beseitigt, indem man die Lösung durch eine Säule mit Aktivkohle filtriert, die teilweise durch n-Hexan desaktiviert worden ist.

Enthält die zu untersuchende Probe Nitrit, so entspricht die gemessene Extinktion der Summe Nitrat + Nitrit. Der Nitratgehalt ergibt sich in diesem Fall, indem man von der gemessenen Gesamtextinktion den auf das Nitrit entfallenden Wert abzieht. Das Verfahren liefert befriedigende Werte.

Herrn Doz. Dr. J. Hrbáček möchte ich für seine Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit meinen herzlichen Dank aussprechen.

Literatur

[1] Føyn, E.: Fiskeridir. Skr. Havundersøk. **9**, Nr. 14 (1951). — [2] Hahn, F. L., u. G. Jaeger: Ber. dtsch. chem. Ges. **58**, 2335 (1925). — [3] Mullin, J. B., u. J. P. Riley: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 464 (1955); vgl. diese Z. **149**, 392 (1956). — [4] Rider, F. B., u. N. G. Mellon: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 96 (1946).

Dipl.-Chem. Lidmila Procházková, Biologische Fakultät der Karls-Universität, Prag II, Viničná 7 (ČSR)

Aus dem Laboratorium für Analytische Chemie der Wissenschaftlichen Fakultät der Universität Santiago de Compostela, Spanien

Analytische Anwendung der Chelone XVII*

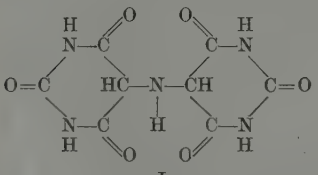
Das Murexid als Indicator für die maßanalytische Makro- und Mikrobestimmung von Kupfer mit einer Maßlösung von 1,2-Diaminocyclohexantetraessigsäure

Von

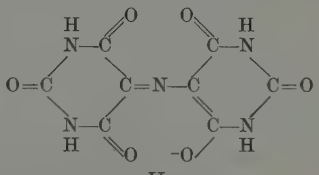
FRANCISCO BERMEJO MARTINEZ und RAMON REY MENDOZA

(Eingegangen am 11. Dezember 1958)

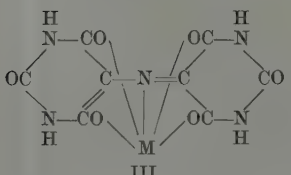
Das Ammoniumpurpurat, auch Murexid genannt, ist ein Oxydationsprodukt des Barbiturylamins(I). Die Struktur seines monovalenten Anions gehört der Formel II an. Die Formeln III und IV gehören möglichen Strukturen ihrer Chelatkomplexe mit Metallionen an.



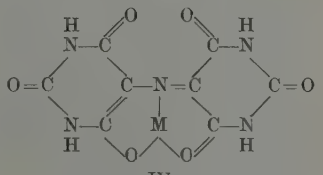
I



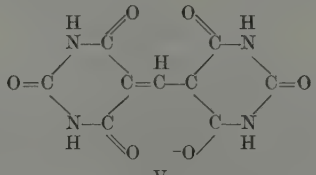
II



III



IV



V

Die angegebenen Strukturen und die Anwendung dieses Reagenses als Metallindicator hat SCHWARZENBACH[2,4] genauestens studiert und

* Teil XVI: Siehe Quím. e. Ind. (Bilbao), 6, Nr. 1 (1959).

beschrieben. Die Struktur III bezieht sich auf ein chelaticrendes, pentadentiertes Reagens; das Metall verbindet sich mit einem Atom Stickstoff und 4 Atomen Sauerstoff. Trotzdem ist es schwer erklärlich, wie die Donatorgruppen sich so vorteilhaft in der Nähe des Metallions anordnen können. Die Struktur V (welche 4 gleichwertige Resonanzformen besitzt), läßt erkennen, daß sie eine große Resonanz unter Mitwirkung der Ringe gibt. Als Konsequenz sind die Ringe coplanar, d.h. sie befinden sich auf derselben Fläche und nähern sich einer tridentierten Struktur wie der von IV. Schwarzenbach studierte auch die Eigenschaften des Murexids, Sočevanova[5] sowie Moser u. Williams[1] beschäftigten sich mit der Darstellung des Murexids, um es als Indicator zu benutzen. Sie studierten auch seine gravimetrische Bestimmung.

Die Lösungen von Murexid haben bis p_H 9 rotviolette Farbe. Wenn der p_H-Wert bis 11 steigt wird die Violettfärbung stärker und bei p_H 11 ist die Färbung ausgesprochen Blauviolett. Dieser Farbwechsel ist begleitet von der Überlassung eines Protons von 2 Imidogruppen.

Das Murexid bildet Komplexe mit vielen Metallionen. Es sind aber nur die mit Ca, Ni, Co, Zn, Cd und Cu gebildeten haltbar genug, um vom analytischen Standpunkt aus Bedeutung zu haben. Diese Komplexe sind in alkalischem Mittel rot (Ca), gelb (Cu, Ni, Co) oder orangefarbig (Zn und Cd). Das Murexid war der erste Metallindicator für chelatometrische Bestimmungen. Man gebrauchte ihn u.a. auch für Bestimmungen von ÄDTE, Schwarzenbach u. Flaschka[3] schlugen den Indicator für die Bestimmung des Kupfers mit ÄDTE vor. Wehber[6] bestimmte die zweiwertigen Kupferlösungen mit Nitrilotriessigsäure, pufferte die zu untersuchende Lösung mit Hexamethylentetramin und fügte Murexid als Indicator zu.

In der vorliegenden Arbeit schlagen wir eine Methode zur maßanalytischen Bestimmung des Kupfers mit 1,2-Diamino-cyclohexantetraessigsäure (DCyTE) unter Verwendung von Murexid als Metallindicator vor. Der Komplex DCyTE-Cu^{II} ist beständiger als der ÄDTE-Cu^{II}-Komplex und ermöglicht daher die scharfe Einstellung des Äquivalenzpunktes.

Arbeitsvorschrift

Arbeitsmaterial. Eine gewöhnliche Bürette und eine Mikrobürette Bang.

Lösungen und Reagentien. Ungefähr 0,1, 0,01 und 0,001 m Na_2-DCyTE-Lösungen wurden hergestellt durch Lösen der berechneten Menge Dinatriumsalz, der 1,2-Diaminocyclohexantetraessigsäure in bidest. Wasser. Diese Lösungen wurden gegen Zinkstandardlösung eingestellt. — Ferner wurden angewendet: wäßrige 0,1007 m Kupfersulfatlösung, 2,5%ige Ammoniaklösung und eine vollkommen homogene Mischung von Murexid:NaCl im Verhältnis 1:100.

Ausführung. In einem 250 ml-Erlenmeyer-Kolben bringt man aliquote Teile der Kupferlösung mit 2 ml Ammoniak auf p_H 9—10 und verdünnt auf 150 ml. Dazu gibt man eine Spatelspitze Indicator und titriert mit der Na_2-DCyTE-Lösung bis zum Farbumschlag von Gelb nach Violettrot.

Ergebnisse und Beobachtungen

Diese Methode wetteifert mit den klassischen Methoden zur Kupferbestimmung. Die erreichten Resultate im Makro- und Mikrobereich sind außerordentlich gut (vgl. Tab. 1). In bezug auf die Schnelligkeit der Bestimmung ist das Verfahren der jodometrischen Methode überlegen. Man muß der Lösung Ammoniumhydroxyd zugeben, bis der zuerst gebildete Niederschlag sich wieder auflöst. Ein zu großer Ammoniaküberschuß ist aber zu vermeiden, da sonst die stark blaue Farbe des Kupferamminkomplexes eine weitere Dosis Indicator verlangen würde, was das

Tabelle. *Titration von Kupfer mit DCyTE-Lösung in Anwesenheit von Murexid als Indicator*

Milligramm Cu gegeben	Milliliter DCyTE-Lösung		Milligramm Cu gefunden	Abweichung %
	theor. Wert	gefunden		
0,064	1,064	1,065*	0,064	0
0,128	2,128	2,130*	0,128	0
0,192	3,193	3,153*	0,189	1,56
0,256	4,257	4,256*	0,256	0
0,320	5,321	5,310*	0,319	0,31
0,512	8,513	8,512*	0,512	0
0,640	10,640	10,641*	0,640	0
0,960	15,960	15,956*	0,959	0,1
1,280	21,280	21,277*	1,279	0,01
2,559	4,257	5,310**	3,193	0,07
3,200	5,321	5,310**	3,193	0,22
5,120	8,513	8,519**	5,122	0,03
6,400	10,640	10,645**	6,400	0
9,600	15,960	15,951**	9,590	0,10
12,800	21,280	21,280**	12,800	0
25,590	4,257	4,250***	25,540	0,15
32,000	5,321	5,300***	31,860	0,43
51,200	8,513	8,520***	51,210	0,02
64,000	10,640	10,630***	63,900	0,15
96,000	15,960	15,920***	95,720	0,28

* DCyTE-Na_2-Lösung 0,000946 m. ** DCyTE-Na_2-Lösung 0,00946 m.
*** DCyTE-Na_2-Lösung 0,0946 m.

Endresultat ungünstig beeinflußt. Der p_H-Wert soll im Bereich 8 bis 9 liegen. In diesem p_H-Bereich ist das Murexid rotviolett gefärbt. Wie bei allen chelatometrischen Verfahren ist es für die Beobachtung des Endpunktes günstig, genügend zu verdünnen. Die besten Ergebnisse liefert eine Kupferlösung von 1 bis 2 m Mol/Liter. Die Konzentration an Ammoniumhydroxyd muß nach der Verdünnung 0,01 bis 0,1 m betragen. Als Indicator kann man an Stelle des Murexid-NaCl-Gemisches auch eine gesättigte Lösung von Murexid in Wasser benutzen. Diese Lösung verändert sich aber schnell und muß täglich erneuert werden. Für die Mikrobestimmung muß man die möglichen Kupferspuren in Betracht ziehen,

welche im gewöhnlichen dest. Wasser vorhanden sein können und welche das Resultat der Analyse empfindlich verändern. Die Glaskolben zur Bestimmung sollen immer aus Pyrexglas oder Jenaerglas bestehen. Wenn sie neu sind, ist es vorteilhaft, Wasser in ihnen verdampfen zu lassen oder sie mit einer alkalischen Chelatlösung zu behandeln. Zur Reinigung des Wassers wird eine Entsalzung mit Ionenaustauschern empfohlen. Bei der beschriebenen Bestimmung stören Schwermetalle, besonders Ni, Co, Zn, Cd und Mn. Man kann sie aber leicht durch Ausfällung des Kupfers mit H_2S, KSCN, Oxin, usw. beseitigen. Die Erdalkalimetalle stören nicht.

Zusammenfassung

Es wird der Gebrauch von Murexid als Indicator für die maßanalytische Makro- und Mikrobestimmung des Kupfers mit einer Maßlösung von 1,2-Diaminocyclohexantetraessigsäure (DCyTE) vorgeschlagen.

Literatur

[1] Moser, J. H., and M. B. Williams: Analyt. Chemistry **26**, 1167 (1954); vgl. diese Z. **147**, 231 (1955). — [2] Schwarzenbach, G., W. Biedermann u. F. Bangerter: Helv. chim. Acta **29**, 811 (1946). — [3] Schwarzenbach, G., u. H. Flaschka: Komplexone, Titration mit Hilfe von Komplexonen. Zofingen (Schweiz): B. Siegfried 1953. — [4] Schwarzenbach, G., u. H. Gysling: Helv. chim. Acta **32**, 1108 1314 (1949); vgl. diese Z. **135**, 370 (1952). — [5] Sočevanova, M. M.: Ž. anal. Chim. **11**, 219 (1956); vgl. diese Z. **155**, 201 (1957). — [6] Wehber, P.: diese Z. **149**, 419 (1956).

Prof. Dr. F. Bermejo Martinez, General Mola 21—3°, Santiago de Compostela (Spanien)

Trennungen von Kationen an der Silicagel-Säule

Von

H. W. Kohlschütter und H. Getrost

(Eingegangen am 6. Januar 1959)

Silicagel (als Xerogel) adsorbiert aus sauren Lösungen solche Kationen, für die Bildung von löslichen Hydroxokomplexen nachgewiesen ist bzw. als möglich angesehen werden kann. H. W. Kohlschütter u. H. Getrost[1] haben charakteristische Beispiele für quantitative Trennungen angegeben, die sich auf dieser Grundlage ausführen lassen.

Der Nachweis dafür, daß die Bildung von Hydroxokomplexen eine Voraussetzung für die Adsorption von Kationen aus sauren Lösungen an Silicagel ist, konnte zunächst durch Untersuchungen über die Einwirkung von Beryllium- oder Aluminium- oder Zirkoniumsalzlösungen auf Silicagel geführt werden*.

* Die sogenannte Adsorption von Beryllium bzw. Aluminium aus sauren Lösungen an Silicagel wird ausführlich in Einzelmitteilungen beschrieben werden.

Die Adsorption von Kationen in Form von Hydroxokomplexen aus Metallsalzlösungen an Silicagel beruht auf Vorgängen, die zusammenfassend nach dem Schema einer sogenannten hydrolytischen Adsorption beschrieben werden können. Das heißt, die Hydroxokomplexe werden an die SiOH-Gruppen der Silicageloberfläche gebunden. Dabei wird Säure frei, die von der überstehenden Lösung unter Abbau der noch gelösten Hydroxokomplexe zu Aquokomplexen verbraucht wird. Die entstandenen Aquokomplexe werden vom Silicagel nicht mehr adsorbiert. Es findet infolgedessen nur eine teilweise Adsorption des Metallgehaltes der Lösungen am Silicagel statt. Der Abbau der Hydroxokomplexe kann jedoch durch Zusatz einer Pufferlösung unterdrückt werden. So gelingt an der Silicagelsäule die Trennung von Kationen, die in saurem Bereich einerseits Hydroxokomplexe, andererseits Aquokomplexe bilden.

Im folgenden wird die Arbeitsvorschrift für einige quantitative Trennungen an der Silicagelsäule gegeben.

Arbeitsvorschrift

Apparatur. Ein ungefähr 90 cm langes Glasrohr mit der lichten Weite von 1,2 cm wird mit ungefähr 50 g Silicagel („Kieselgel, 0,2—0,5 mm für Säulenchromatographie", Merck) gefüllt. Das Silicagel wird mit Wasser eingeschlämmt. Auf das Glasrohr wird ein Tropftrichter (etwa 300 ml) aufgesetzt. Da die Handelspräparate Silicagel nicht immer eisenfrei sind, muß die Säulenfüllung zunächst mit Salzsäure (1 : 1) gereinigt und mit Wasser nachgewaschen werden. Nach dieser Reinigung läßt man etwa 50 ml Pufferlösung durch die Säule fließen. Die Pufferlösung ist eine 10%ige Ammoniumacetatlösung, der je Liter 8,5 ml konz. Essigsäure zugesetzt werden. Der p_H-Wert dieser Pufferlösung liegt bei 5,7. Der Durchfluß wird abgebrochen, bevor der Meniskus der Lösung in die Säule eintritt.

Mit dem angegebenen Präparat wurde bei einer Säulenhöhe von ungefähr 80 cm eine Durchlaufgeschwindigkeit für Wasser bei Raumtemperatur von etwa 2 ml je Minute erreicht. Die Durchlaufgeschwindigkeit kann durch Vergrößerung des Querschnittes und damit durch Verkürzung der Säulenhöhe bei konstantem Säulenvolumen gesteigert werden. Je 50 g des genannten Präparates von Silicagel ergaben:

	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	
Durchmesser der Säule	1,2	2,1	2,6	cm
Höhe der Säule	80,0	26,1	17,05	cm
Durchlaufgeschwindigkeit für Wasser (20° C)	2,0	17,2	30,5	ml/min

Die Durchlaufgeschwindigkeit war angenähert proportional dem Quadrat des Säulenquerschnitts.

Die im folgenden beschriebenen Trennungen wurden mit der engsten bzw. längsten Säule Nr. 1 ausgeführt.

Arbeitsgang. Die Analysenlösung wird bei geschlossenem Hahn in den Tropftrichter eingefüllt und mit der Pufferlösung versetzt*. Das Volumen der zugesetzten Pufferlösung richtet sich nach dem Volumen und dem p_H-Wert der aufgegebenen Analysenlösung. Wenn die Analysenlösung stark sauer ist, wird sie vor Zugabe der Pufferlösung mit Ammoniak annähernd neutralisiert. Der Inhalt

* Dabei wird im allgemeinen ein p_H-Wert um 5 erreicht.

des Tropftrichters fließt über die Säule, der Durchlauf wird in einem Meßkolben aufgefangen. Anschließend wird mit 50 ml Pufferlösung nachgewaschen.

Bei diesem Auswaschen sind geringe Unterschiede der Auswaschbarkeit der Kationen zweiwertiger Metalle erkennbar. Für Kupfer, Nickel, Mangan und Erdalkalien z. B. wird ein geringeres Volumen Pufferlösung als für Zink benötigt.

Die in den abfließenden Lösungen enthaltenen Kationen werden maßanalytisch bestimmt. Auf diese Weise lassen sich Störungen durch Kieselsäure, die in geringer Menge von der Säule abgelöst wird, vermeiden. Die von der Säule zunächst festgehaltenen Kationen werden mit Salzsäure (1 : 1) abgelöst. Hierzu reichen 50 ml Säure aus. Nach dieser Trennoperation wird die Säule mit dest. Wasser und zuletzt mit 50 ml Pufferlösung nachgewaschen. Sie ist dann für eine neue Trennung einsatzbereit. An ein und derselben Säule kann eine sehr große Anzahl von Trennungen ausgeführt werden.

Ergebnisse

Charakteristische Beispiele für quantitative Trennungen liefern die Kationenpaare, die einerseits Al oder Fe^{III}, andererseits eines der folgenden Metalle enthalten: Ca, Ba, Mg, Ni, Cu, Mn^{II}, Zn, Fe^{II}.

Auch eine Trennung Al/Fe^{III} ist möglich, wenn Fe^{III} vor der Pufferung der Lösung und vor dem Eintritt der Lösung in die Säule zu Fe^{II} reduziert wird. Zu diesem Zweck setzt man eine kleine Reduktionssäule auf den Tropftrichter auf. Die schwach saure Analysenlösung durchfließt zunächst den Reduktor. Sie sammelt sich in dem Tropftrichter, der vorher mit Pufferlösung beschickt wurde. Um eine nachträgliche Oxydation von Fe^{II} zu vermeiden, wird die Pufferlösung bereits vor dem Zufluß der Analysenlösung mit Stickstoff durchgespült. Der Stickstoffstrom wird auch durch die Vorlage geführt. Die Vorlage kann vor dem Zufluß der Fe^{II} enthaltenden Lösung mit Schwefelsäure beschickt werden. Wenn dies geschieht, läßt sich Fe^{II} im offenen Gefäß titrieren. Die aus der Reduktionssäule mitgeführten zweiwertigen Metalle (Cd bzw. Zn) werden wie die zweiwertigen Metalle der Analysenlösung von der Säule nicht zurückgehalten. Für die Befreiung des Stickstoffs von Sauerstoffresten genügt das Durchleiten durch eine mit alkalischer Mn^{II}-Salzlösung beschickten Waschflasche.

Für die Trennung Fe^{III}/Fe^{II} wird die Analysenlösung unmittelbar in dem Tropftrichter mit der Pufferlösung vermischt. Auch hierbei muß die Pufferlösung vor dem Zusatz der Analysenlösung mit Stickstoff durchgespült werden. Die Tabelle enthält die Ergebnisse einiger Kontrollbestimmungen.

Die Trennung der weiter oben angeführten Kationenpaare gelingt unter den Bedingungen der Arbeitsvorschrift beim p_H-Wert 5,7 der Pufferlösung. Das zweiwertige Beryllium kann unter diesen Bedingungen nicht vom Aluminium getrennt werden. Die Bedingungen, unter denen sich in Berylliumsalzlösungen Hydroxokomplexe bilden, liegen sehr nahe den Bedingungen, unter denen sich in Aluminiumsalzlösungen Hydroxokomplexe bilden.

Die Art der Anionen hat auf die erwähnten Kationentrennungen keinen Einfluß. Geprüft wurden NO_3^-, Cl^- und SO_4^{2-}.

Tabelle

Fe^{II}-Gehalt der Lösung		Fe^{III}-Gehalt der Lösung	
vor der Trennung mg	nach der Trennung mg	vor der Trennung mg	nach der Trennung mg
93,50	93,50	105,70	105,70
46,75	46,85	52,80	52,80
18,70	18,55	105,70	105,90
93,50	93,40	21,15	21,20
46,75	46,75	105,70	105,70
93,50	93,50	1,60	1,55
90,20	90,10	5,10	5,30

Das angegebene Prinzip der Kationentrennung kann verallgemeinert werden. Seine Anwendbarkeit hängt ab von der Bildung von Hydroxokomplexen in sauren Lösungen und von der Beständigkeit der Oberflächenverbindungen, die sich durch Wechselwirkung der Hydroxokomplexe mit den SiOH-Gruppen des Silicagels bilden.

Zur Kapazität der Silicagelsäule

Die für analytische Trennungen wichtige Frage, welche Absolutmengen an einer gegebenen Säule getrennt werden können, hängt von der Kapazität des angewandten Silicagelpräparates für die Hydroxokomplexe der betreffenden Kationen ab.

Bei der Aufnahme von Adsorptionsisothermen für das System Silicagel/basische Aluminiumchloridlösungen wurde eine Sättigung des Silicagels bei dem Verhältnis $Al : SiO_2$ ungefähr 0,1 gefunden[1]. Dieses Verhältnis war sinnvoll im Hinblick auf die an vergleichbaren Silicagelpräparaten gefundene Konzentration zugänglicher SiOH-Gruppen.

Für eine analytische Trennung wird man die maximale Kapazität der Silicagelsäule aus Sicherheitsgründen nicht ausnützen.

Bei der Aufgabe von je 100 mg Aluminium bzw. Eisen(III) auf die beschriebene Silicagelsäule (Nr. 1) wurden Aluminium in einer Zone von ungefähr 10—12 cm, Eisen(III) in einer Zone von ungefähr 25—30 cm am oberen Ende der Säule festgehalten. Das waren rund $^1/_8$ bzw. $^1/_3$ der gesamten Säulenlänge. Die Aluminiumzone konnte durch Anfärben mit Alizarin sichtbar gemacht werden.

Vorschrift für die Anfärbung der Aluminiumzone. Nach dem Aufgeben der Aluminiumlösungen und nach dem vollständigen Auswaschen der Silicagelsäure mit Wasser bis zum Ausbleiben des NH_4-Nachweises wird eine $5^0/_0$ige Lösung von Alizarin (Natriumsalz der Sulfosäure) aufgegeben. Der Überschuß des Farbstoffes wird mit Wasser ausgewaschen. Die Aluminiumzone erscheint dann intensiv rot

gefärbt. Die aluminiumfreie Zone der Silicagelsäure bleibt rein weiß. Bei Anwesenheit von NH_4-Ionen würde sich die aluminiumfreie Zone der Silicagelsäure violett färben und von der aluminiumhaltigen Zone schlecht unterscheiden lassen.

Die Eisen(III)-Zone war durch ihre Eigenfarbe unmittelbar sichtbar. Die Längen beider Zonen veränderten sich beim Auswaschen der Säule mit Pufferlösung bzw. mit Wasser nicht. Die Konzentrationen der Kationen in den Säulenabschnitten betrugen rund 0,037 g-Atome Aluminium je Mol SiO_2 bzw. 0,0072 g-Atome Eisen je Mol SiO_2. In dem Längenunterschied der Aluminium- und der Eisen(III)-Zone kommt der Unterschied der Kapazität des Silicagelpräparates für Aluminium und Eisen(III) zum Ausdruck.

Die Farbfolge, die in der Eisen(III)-Zone beim Aufgeben der Lösung (rotbraun), beim Auswaschen mit Pufferlösung (heller braun), beim Auswaschen mit Wasser (hellgelb) und schließlich bei langem Auswaschen mit Wasser (hydroxydbraun) auftritt, deutet folgendes an: Die Reaktionsprodukte an der Oberfläche des Silicagels enthalten zunächst auch Acetatreste. Beim Auswaschen mit Wasser findet langsam fortschreitende Hydrolyse am Reaktionsprodukt statt.

Bei der Anwendung der Silicagelsäulen Nr. 1, 2, 3 (je 50 g Silicagel) war die Kapazität der Gerüstsubstanz gleich groß. Trotz der Zunahme der Durchlaufgeschwindigkeit waren die angegebenen Trennungen an diesen drei Säulen möglich. Die Trennzeiten verkürzten sich mit der Zunahme der Durchlaufgeschwindigkeit wesentlich. Die Bindung der Hydroxokomplexe an die Gerüstsubstanz erfolgte schnell.

Zusammenfassung

Es wird eine Arbeitsvorschrift für die quantitative Trennung zwei- und dreiwertiger Metalle gegeben.

Besonderheiten, die bei der Adsorption einzelner Kationen beachtet werden müssen und Einfluß auf die Fehlergrenze bei den Trennungen haben können, werden in einer weiteren Mitteilung behandelt.

Die Untersuchung wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Literatur

[1] Kohlschütter, H. W., H. Getrost, G. Hofmann und H. H. Stamm: diese Z. **166**, 262 (1959).

Prof. Dr. H. W. Kohlschütter, Institut für anorg. und physikal. Chemie der Technischen Hochschule, Darmstadt

Aus dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund-Aplerbeck, in Zusammenarbeit mit der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

Maßanalytische Bestimmung von zweiwertigem Quecksilber in Gegenwart von Chlorid, Bromid und Schwermetallen

Von

EWALD JACKWERTH und HERMANN SPECKER

(Eingegangen am 8. Januar 1959)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus bei der Extraktion anorganischer Verbindungen zeigte es sich, daß der Verteilungskoeffizient von zweiwertigem Quecksilber zwischen jodidhaltigen wäßrigen Lösungen und gewissen organischen Lösungsmitteln (Cyclohexanon, aliphatische Ketone, Phosphorsäuretrialkyl- und -triarylester, Kohlensäure- und Schwefligsäureester verschiedener Glykole u. a.) wesentlich größer ist als derjenige anderer Metallionen unter analogen Bedingungen. Schon mit stöchiometrischen Jodidmengen wird das Quecksilber selbst aus hoch verdünnten Lösungen quantitativ als Quecksilber(II)-jodid (HgJ_2) bzw. als Jodomercurat (HgJ_3^-) extrahiert. Das gilt auch in Gegenwart anderer Metallionen, die sich ebenfalls aus jodidhaltigen Lösungen gut extrahieren lassen, beispielsweise in Gegenwart der Ionen der Schwefelwasserstoffgruppe. Es ist deshalb möglich, annähernd bekannte Quecksilbermengen quantitativ und selektiv auch von nahezu allen als Jodide extrahierbaren Elementen abzutrennen, indem man zu der vorliegenden Quecksilber(II)-salzlösung eine solche Jodidmenge hinzugibt, daß der Wert des molaren Konzentrationsverhältnisses von Jodid und Quecksilber zwischen 2 und 3 liegt. Bei der nachfolgenden Extraktion wird das Quecksilber teilweise als HgJ_2, teilweise als HgJ_3^- extrahiert. Weiterer Jodidzusatz bewirkt in glatter Reaktion den Umsatz des extrahierten HgJ_2 zum HgJ_3^-. Erst nach vollständigem Ablauf dieser Reaktion werden mit weiterem Jodidzusatz die übrigen Elemente extrahiert und zwar in definierter Reihenfolge. Über diese Extraktionsreihe und die damit zusammenhängenden Fragen des Extraktionsmechanismus sowie über ihre analytischen Anwendungen werden wir demnächst berichten. Hier sei vorweggenommen, daß in der Extraktionsreihe auf das Quecksilber das Wismut folgt, das beispielsweise von Cyclohexanon als intensiv rotorange gefärbtes Wismut(III)-jodid extrahiert wird. Wegen dieser intensiven Färbung ist das Wismut geeignet, den Endpunkt der

oben beschriebenen Reaktionen zwischen Quecksilber und Jodid zu indizieren.

Bei kontinuierlicher Zugabe einer Jodidmaßlösung zu einer sauren, Wismut(III)- und Quecksilber(II)-ionen enthaltenden Lösung, die mit Cyclohexanon überschichtet ist und lebhaft gerührt wird, laufen nacheinander folgende Reaktionen quantitativ ab:

$$Hg^{2+} + 2\,J^- = HgJ_2 \qquad (1)$$
$$HgJ_2 + J^- = HgJ_3^-. \qquad (2)$$

Am Ende der Reaktion (2) ist je nach der vorhandenen Menge Quecksilber die organische Phase farblos oder schwach gelb gefärbt. Der erste Tropfen überschüssiger Jodidlösung führt zur Bildung von Wismut(III)-jodid, das sofort unter deutlich erkennbarem Farbumschlag nach Orange von der organischen Phase aufgenommen wird. Sofern die Lösung keine Ionen mit störender Eigenfarbe enthält, braucht man zur Erkennung des Endpunktes das Absetzen der Phasen nicht abzuwarten. Die geschilderten Umsetzungen sind sehr gut zur maßanalytischen Bestimmung des Quecksilbers geeignet. Diese Bestimmung wird weder durch die Alkalien, Erdalkalien, Aluminium, Gallium, Indium, Zinn(IV), Blei, Arsen, Antimon, Wismut, Kupfer, Zink, Cadmium, Zirkonium, Thorium, Molybdat- und Uranylionen, Kobalt, Nickel, Eisen noch durch größere Mengen Chlorid und Bromid gestört. Dies zeigen die nachstehenden aus je 10 Titrationen ermittelten Werte:

1. vorgelegt 200,6 mg Hg; gef. Mittelwert 200,53 mg Hg; Standardabweichung $\pm$ 0,49 mg Hg, Varianz = 0,24‰.
2. vorgelegt 200,6 mg Hg + 100 mg KCl; gef.: 200,67 mg Hg; Standardabweichung $\pm$ 0,86 mg Hg, Varianz = 0,43‰.
3. vorgelegt 200,6 mg Hg + 100 mg KBr; gef.: 200,70 mg Hg; Standardabweichung $\pm$ 0,77 mg Hg, Varianz = 0,38‰.
4. vorgelegt 100,3 mg Hg + je 100 mg Pb, Cu, Cd, Bi, As, Sb, Sn^{IV}; gef.: 101,0 mg Hg; vorgelegt 300,9 mg Hg + je 100 mg Pb, Cu, Cd, Bi, As, Sb, Sn^{IV}; gef.: 302,1 mg Hg.

Auch kleinere Hg-Mengen lassen sich mit genügender Genauigkeit titrieren:

vorgelegt 10,03 mg Hg (N = 9); gef.: 10,16 mg Hg; Standardabweichung $\pm$ 0,11 mg Hg, Varianz = 1,0‰.

Die Titration wird gestört durch Thallium, Silber und Thiocyanationen. Die Störung durch die Eigenfarbe von Fremdionen (z. B. Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}) kann man umgehen, indem man in der Nähe des Äquivalenzpunktes nach jeder Jodidzugabe die Phasen sich absetzen läßt und nur die Farbe der organischen Phase beobachtet. Die Farbe der Eisen(III)-ionen entfernt man durch Reduktion mit Hydroxylammoniumchlorid. Die Oxydation der Jodionen durch Kupfer(II)- und Eisen(III)-ionen beginnt erst nach völliger Extraktion des Quecksilberjodids bzw. Jodomercurats.

Das bei der Reaktion mit Cu^{II} freiwerdende Jod kann man bei der analogen Titration von Cadmium mit Jodidlösung zur Endpunktserkennung benutzen.

Zusammenfassung

Bei der Extraktion von Kationen aus jodidhaltigen wäßrigen Lösungen wird zuerst das Quecksilber(II)-ion extrahiert. Die Reaktion $Hg^{2+} + 3\,J^- = HgJ_3^-$ und die quantitative Extrahierbarkeit des Quecksilbers mit Cyclohexanon werden zu einer maßanalytischen Quecksilber(II)-bestimmung herangezogen. Zur Erkennung des Endpunktes werden der Lösung Wismut(III)-ionen zugesetzt; diese bilden nach Ablauf der obigen Reaktion Wismut(III)-jodid, das sich sofort mit orangeroter Farbe in Cyclohexanon löst. Chloride, Bromide und die große Mehrzahl der Schwermetallionen stören die Bestimmung nicht.

Professor Dr. H. Specker, Dortmund-Aplerbeck, Marsbruchstraße 186

Aus dem Institut zur Entwicklung chemisch-physikalischer Analysenmethoden (Dr. Slevogt) Weilheim/Obb.

Dielektrische Schnellbestimmung des Restwassergehaltes anorganischer Düngesalze

Von

Friedrich Oehme

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Januar 1959)

Die konventionellen Methoden zur Restwasserbestimmung (unter 3 Gewichtsprozent) in Düngesalzen sind entweder relativ zeitaufwendig (Trockenschrank, automatische Wägetrockner, Xyloldestillation) oder mit einem nicht unerheblichen Materialaufwand bei Serienbestimmungen verbunden (Karl-Fischer-Titration). Die in wenigen Minuten durchführbare „Extraktionsmethode", welche auf einer DK-Erhöhung eines geeigneten Extraktionsmittels (Dioxan) durch den Wassergehalt der Probe beruht, versagt bei kleinen Wassergehalten infolge eines Störeinflusses der Luftfeuchtigkeit.

Die folgende Arbeit beschreibt eine neue zerstörungsfreie Schnellmethode zur Restwasserbestimmung auf der Grundlage einer Messung der Immersions-DK des Pulvers. Die Methode liefert genaue Meßwerte innerhalb von etwa 3 min und ist mit keinem Substanzverbrauch verbunden.

1. Grundsätzliche Möglichkeiten zur dielektrischen Wasserbestimmung in Düngesalzen

Wasser zeichnet sich gegenüber vielen anderen Flüssigkeiten durch seinen DK-Wert $\varepsilon = 80$ aus. Dieser Wert liegt noch erheblich über der DK aller einschlägigen Düngesalze, wie Tab. 1 erkennen läßt.

Tabelle 1. *DK-Werte einiger trockener Düngesalze* (nach der Immersionsmethode bestimmt)[4]

Substanz	Kaliumchlorid	Ammoniumsulfat	Ammonnitrat	Nitrophoska
DK ε_{20}	4,76	7,33	7,22	12,0

Damit ist grundsätzlich zu erwarten, daß ein zunehmender Wassergehalt eines Düngesalzes in einer starken DK-Erhöhung seinen Ausdruck findet.

Eine Einschränkung erfährt diese Vorstellung jedoch dann, wenn die chemische Substanz des Düngesalzes in der Lage ist, Wasser als Hydratwasser (Kristallwasser) aufzunehmen. Hydratwasser wird so fest in das Kristallgitter eingebaut, daß die Wasser-Dipole als „eingefroren" zu betrachten sind. Für derart gebundenes Wasser kann praktisch der DK-Wert von Eis mit $\varepsilon = 2$ eingesetzt werden. Eine Hydratation von Schwermetallsulfaten macht sich z. B. entsprechend in einer DK-Abnahme bemerkbar (Tab. 2).

Tabelle 2. *DK-Abnahme einiger Schwermetallsalze infolge Hydratation*[1]

Substanz	DK ε_{20}
$CuSO_4 \cdot 1H_2O$	7,00
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	6,46
$ZnSO_4 \cdot 1H_2O$	8,25
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	6,20
$MgSO_4 \cdot 1H_2O$	6,09
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	5,91

In derartigen Fällen versagt eine dielektrische Wasserbestimmung naturgemäß.

Eine weitere Störung ist dann zu verzeichnen, wenn bei größeren Wassergehalten elektrolytische Leitfähigkeiten auftreten, welche bei Überschreiten eines apparativ bedingten Grenzwertes die Messungen verfälschen bzw. ganz unmöglich machen. Bei Wassergehalten über 5% wird deshalb das Wasser z. B. mit Dioxan extrahiert und auf Grund der zustande kommenden DK-Erhöhung des Extraktionsmittels gemessen[1,4].

Die im vorliegenden Fall interessierenden Wassergehalte (unter 3 Gewichtsprozent) verursachen im allgemeinen keine Störeffekte durch Leitfähigkeit.

Mit der getroffenen Einschränkung im Falle des Hydratwassers muß es also grundsätzlich möglich sein, durch Beschicken einer geeigneten „Pulvermeßzelle" mit der fraglichen Probe aus den Skalenwerten der Dekameterabstimmung Rückschlüsse auf den Wassergehalt zu ziehen. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, daß die so erhaltenen Meßwerte

an eine konventionelle Methode einmal angeschlossen werden müssen. Zur Wassergehaltsbestimmung eines bestimmten Düngesalzes muß also ein Eichdiagramm zunächst mit Proben bekannten Wassergehaltes aufgestellt werden. Als Meßzelle kann etwa die Type MKK 6 (Abb. 1) verwendet werden.

Diese Pulvermethode setzt voraus, daß der Meßraum der Pulverzelle unter definierten Bedingungen beschickt wird. Es ist also nicht nur mit einer konstanten Einwaage (und damit mit konstantem „Füllfaktor" der Zelle) zu arbeiten, sondern die Korngröße bzw. Gestalt des Salzes muß ebenfalls praktisch konstant bleiben — eine Voraussetzung, welche nach unseren Erfahrungen unter technischen Verhältnissen nur selten mit der erforderlichen Exaktheit garantiert werden kann. Die „Pulvermethode" kann also nur in Sonderfällen für verläßliche Messungen herangezogen werden, was uns veranlaßte, nach einer universeller anwendbaren Arbeitstechnik zu suchen.

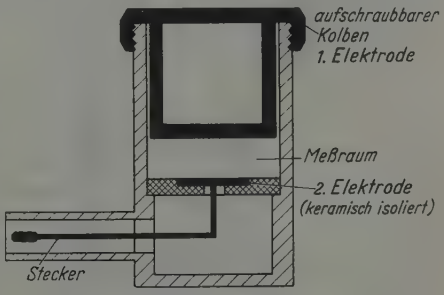


Abb. 1. Schematisierter Aufbau einer Pulvermeßzelle der Type MKK 6 (Hersteller: WTW Weilheim/Obb.) Die obere Elektrode (Kolben) wird bis zu einem markierten Anschlag in den Zellenkörper eingeschraubt. Dadurch entsteht ein Meßraum definierter Kapazität

2. DK-Messungen nach der Immersionsmethode

Der DK-Wert von Pulvern wird meist nach der sogenannten „Immersionsmethode" bestimmt. Die Meßtechnik beruht bekanntlich darauf, daß eine mit dem Pulver „iso-dielektrische Vergleichsflüssigkeit" ermittelt wird. Die Arbeitsgänge sind an sich einfach, dabei aber relativ langwierig[4]. Wir sind deshalb von der Notwendigkeit eines DK-Angleiches von Pulver (ε_p) und Flüssigkeit (ε_l) abgegangen und haben statt dessen eine Methode entwickelt, die nur mit *einer* Immersionsflüssigkeit von konstantem DK-Wert arbeitet. Aus Gründen der Wohlfeilheit bevorzugten wir dabei wassergesättigtes, technisches Benzol.

Das Prinzip dieser Methode geht aus Abb. 2 hervor. Hier sind für zwei Pulver unterschiedlicher DK-Werte (einem trockenem und einem feuchten Salz entsprechend) die Immersions-Funktionen 1 und 2 dargestellt. Der Abszissenschnittpunkt entspricht dem isodielektrischen Punkt $\varepsilon_l = \varepsilon_p$. Er liefert den *wahren DK-Wert des Pulvers.*

Abb. 2 läßt weiter erkennen, daß für Benzol mit $\varepsilon_l = 2{,}3$ zwischen den beiden Meßstrecken einer Immersionsmeßzelle (vgl. Abb. 3 und

Abschnitt 3) für die beiden Pulver 1 und 2 die Skalenteildifferenzen $\Delta S1$ und $\Delta S2$ gemessen werden. Der Wert $\Delta S' = \Delta S2 - \Delta S1$ ist dabei ein *relatives Maß für den DK-Unterschied* der beiden Pulver und bei Bezug auf das trockene Pulver 1 wird $\Delta S'$ eine Funktion des Wassergehaltes. Auch die Werte $\Delta S1$, $\Delta S2$, ... hängen direkt vom Wassergehalt ab. Da sie unmittelbar aus den Meßwerten einer Immersionsmeßzelle der Type MPI 4 T erhalten werden, sind sie aus Gründen der Einfachheit an Stelle von $\Delta S'$ zur Wasserbestimmung herangezogen worden. Beide Auswerteverfahren unterscheiden sich lediglich in der Wahl des Bezugspunktes auf der Ordinate (vgl. auch die Abb. 4 u. 5).

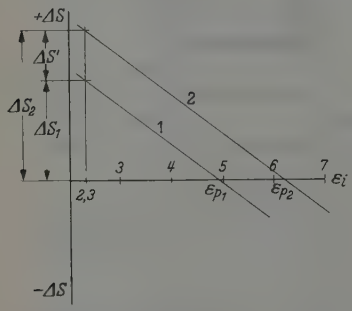


Abb. 2. Schematisierte Darstellung der Immersionsfunktion eines trockenen (*1*) und eines feuchten (*2*) Salzes. ε_{p_1} bzw. ε_{p_2}: DK des Salzes 1 und 2. $\Delta S'$: Differenz der ΔS-Werte der beiden Salze für ε_i = konst. — 2,3 (Benzol). $\Delta S'$ ist eine Funktion des DK-Unterschiedes der beiden Salze bzw. des Wassergehalts

Im Zusammenhang mit diesen Messungen ist noch auf eine dielektrische Anomalität hinzuweisen:

Die oben angestellten Betrachtungen über die DK-Erhöhung einer Substanz bei Wasseraufnahme können quantitativ in dem Sinne ergänzt werden, daß hygroskopisches Wasser unter Zugrundelegung eine linearen Mischungsformel — unabhängig vom DK-Wert der Grundsubstanz — je 1% Wasser eine DK-Erhöhung von 0,8 ε bewirkt[3]. Bereits bei Flüssigkeiten treten von dieser Regel erhebliche negative Abweichungen auf, jedoch kann für halbquantitative Abschätzungen auch bei Festkörpern in erster Näherung mit diesem Wert gearbeitet werden. Dabei ist nun die Beobachtung überraschend, daß in anorganischen Salzen je 1% Wasser der DK-Wert um 5—10 ε erhöht wird. Dabei wäre auch hier eher eine negative Abweichung von der additiven Regel zu erwarten, da zweifellos nur ein kleiner Teil des vorhandenen Restwassers im echten Sinne als „hygroskopisches Wasser" vorliegen wird und damit gerechnet werden muß, daß ein größerer Teil „halbgebunden" ist (vgl. auch[2]).

Inwieweit diese Anomalität auf das Vorliegen „geschichteter Dielektrika" — durch das wechselweise Vorhandensein trockener Kristalle mit einer in den Wassertröpfchen gegebenen gesättigten Salzlösung — zurückzuführen ist, kann noch nicht entschieden werden. Hier müssen noch Meßreihen bei verschiedenen Frequenzen durchgeführt werden. Für die interessierende analytische Aufgabenstellung ist dieser Effekt in theoretischer Hinsicht auch belanglos, obwohl er praktisch eine sehr hohe Ansprechempfindlichkeit bei kleinen Wassergehalten erzielen läßt.

3. Zur praktischen Ausführung der Wasserbestimmung nach der Immersionsmethode

Unsere Messungen wurden mit einer Meßzelle der Type MPI 4 T (Abb. 3) in Verbindung mit einem Dekameter DK 03 bei einer Arbeitsfrequenz von 1,8 MHz durchgeführt[5]. Die Temperierung der Meßzelle erfolgte mit einem Kleinthermostaten KTS 5*. Die Meßzelle MPI 4 T ist dadurch ausgezeichnet, daß sie zwei elektrisch gleichwertige Meßstrecken (1 und 2, vgl. Abb. 3) in dem mit der Vergleichsflüssigkeit gefüllten Meßraum *M* aufweist. Ist die Zelle nur flüssigkeitsgefüllt, wird bei wahlweisem Einschalten der beiden Meßstrecken nach Abstimmen des Dekameters derselbe Skalenwert festzustellen sein. Kommt dagegen nach vorübergehendem Aufsetzen des Leitkegels *K* in den äußeren Meßraum 1 eine bestimmte Menge des fraglichen Pulvers, ist nur dann bei beiden Schalterstellungen des Umschalters *U* der gleiche Skalenwert festzustellen, wenn Pulver und Vergleichsflüssigkeit zufällig im DK-Wert übereinstimmen („iso-dielektrischer Fall", siehe Abschnitt 2). Bei der hier beschriebenen neuen Immersionsmethode wird von dieser DK-Anpassung bewußt Abstand genommen und vielmehr die zwischen beiden Schalterstellungen auftretende Skalenteildifferenz ΔS als relatives Maß für den DK-Wert des Pulvers gewählt. (Die Methode kann auch zur direkten DK-Bestimmung herangezogen werden, worüber an anderer Stelle berichtet werden wird.) Die Restwasserbestimmung in Düngesalzen nach der neuen Immersionsmethode ist kein absolutes Verfahren. Es wird deshalb für ein jedes interessierende Salz zunächst die Aufstellung eines Eichdiagrammes mit Proben *bekannten* Wassergehaltes erforderlich. (Wir bezogen uns auf die Trockenschrankbestimmung der Restfeuchte.) Das geschieht so, daß der Meßraum *M* der Immersionszelle mit Benzol gefüllt und nach Aufsetzen des Leitkegels *K* eine bestimmte Menge des fraglichen Salzes (bekannten Wassergehaltes!) in die Meßstrecke 1 eingetragen wird. Nach Entfernen des Leitkegels *K* und Auflegen des Deckels *D* wird (nach kurzem Temperieren) das Dekameter in beiden Schaltstellungen von *U* abgeglichen und zwischen beiden Ablesungen die Differenz ΔS gebildet. ΔS wird im Eichdiagramm als Ordinate, der zugehörige Wassergehalt als Abszisse aufgetragen (vgl. die Abb. 4 u. 5). Die für die Eichung erforderliche Zahl der Proben bekannten Wassergehaltes richtet sich

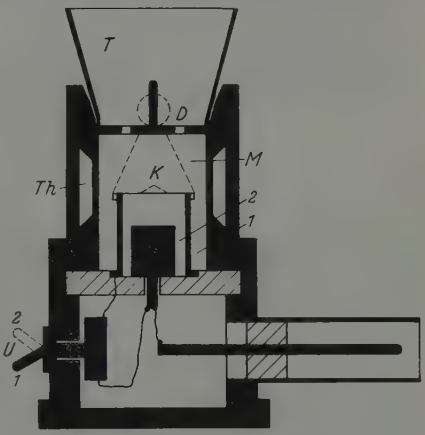


Abb. 3. Konstruktiver Aufbau der Immersionsmeßzelle, Type MPI 4 T. (Hersteller: WTW, Weilheim/Obb.) *M* Meßraum mit den beiden gleichwertigen Meßstrecken *1* und *2*; *U* Umschalter für die Meßstrecken 1 und 2; *K* abnehmbarer Leitkegel zum Einbringen des Pulvers in 1; *D* Einlegedeckel zur Schaffung eines definierten elektrischen Feldes im Meßraum; *T* aufsetzbarer Schütttrichter; *Th* Thermostatenmantel (Anschlußstutzen nicht gezeichnet)

* Hersteller dieser Geräte: Wissenschaftlich-technische Werkstätten, (WTW), Weilheim/Obb.

etwas nach der Form der erhaltenen Eichkurve. Maximal 10 Proben dürften stets ausreichen. Die Einwaage hängt von der Beschaffenheit des Düngesalzes ab (Korngröße, Schüttvolumen). Sie muß so gewählt werden, daß der die Meßstrecke 1 und 2 abgrenzende Innenzylinder etwa noch 5 mm über das in der Meßstrecken 1 sedimentierte Salz hinausragt. Für Granulate von Kalkammonsalpeter und Nitrophoska der BASF erfüllten Einwaagen von 8 g diese Voraussetzung.

Nach Aufstellen der Eichdiagramme kann die Wasserbestimmung der Proben innerhalb weniger Minuten vorgenommen werden, wobei sinngemäß wie bei der Eichung ΔS ermittelt wird. Aus dem Eichdiagramm kann dann sofort der zugehörige Wassergehalt entnommen werden.

Das als Vergleichsflüssigkeit dienende Benzol kann nach Abfiltrieren von Salzteilchen immer wieder benutzt werden. Da es sich um eine Differenzmessung handelt, spielt auch die Reinheit des Benzols eine untergeordnete Rolle.

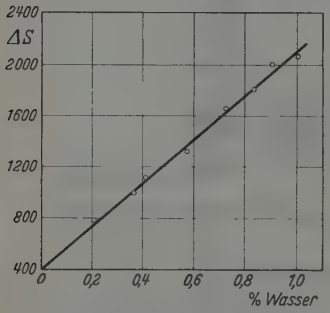


Abb. 4. Eichdiagramm zur Wasserbestimmung in Kalkammonsalpeter (Granulat) nach der Immersionsmethode. Feines Granulat. Einwaage 8 g

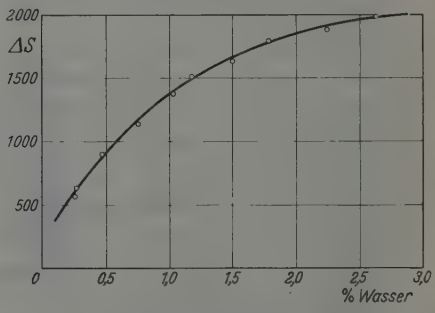


Abb. 5. Eichdiagramm zur Wasserbestimmung in Nitrophoska (Granulat) nach der Immersionsmethode. Grobes Granulat. Einwaage 8 g

Die hohe Ansprechempfindlichkeit der Methode bei den nur kleinen Streuungen kann aus zwei als Beispiel gebrachten Eichdiagrammen (Abb. 4 u. 5) entnommen werden.

Zusammenfassung

Die bekannte und vielfach benutzte Möglichkeit, Bestimmungen des Wassergehaltes auf der Grundlage von Messungen der Dielektrizitätskonstanten auszuführen, wird in der vorliegenden Arbeit mit einer neuen Immersionsmeßtechnik zur Restwasserbestimmung in anorganischen Düngesalzen herangezogen. Durch einen anomal hohen DK-Beitrag des im Düngesalz vorliegenden Wasseranteiles (unter 5 Gewichtsprozent) wird eine sehr hohe Ansprechempfindlichkeit erreicht. Die neue Methode wird durch zwei Diagramme zur Restwasserbestimmung in Nitrophoska und Kalkammonsalpeter belegt.

Literatur

[1] Cheng, C. K.: Philos. Mag. J. Sci. **30**, 505 (1940); vgl. Chem. Zbl. **1941**, II, 1827. — [2] Kohlschütter, H. W., u. H. H. Stamm: Z. anorg. allg. Chem. **278**, 264 (1955). — [3] Oehme, F.: Angew. Chem. **68**, 457 (1956); vgl. diese Z. **156**, 295 (1957). — [4] Oehme, F.: Dielektrische Messungen zur quantitativen Analyse und chemischen Strukturbestimmung, Weinheim/Bergstr. 1958. — [5] Slevogt, K., u. E. Duvernoy: Das Dekameter als modernes Hilfsmittel im Labor und im Betrieb. Schriftenreihe der Wissenschaftlich-technischen Werkstätten, Weilheim/Obb.

Dipl.-Chem. F. Oehme, Weilheim/Obb., Trifthofstraße

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Zur unmittelbaren Bestimmung von Peroxyverbindungen nebeneinander verwenden L. J. Csányi und F. Solymosi[1] die Titration mit arseniger Säure, um die Störung durch Kupfer(II)- und Eisen(II)-Ionen bei der früher mitgeteilten cerimetrischen Methode[2] auszuschließen[3]. *Peroxyschwefelsäure* reagiert mit arseniger Säure in 1—2 n schwefelsaurer Lösung in Gegenwart von Bromid äußerst schnell, ohne daß Wasserstoffperoxyd oder Peroxydischwefelsäure angegriffen werden. *Wasserstoffperoxyd* reagiert beinahe momentan, wenn man Osmiumsäure und Molybdation als Katalysator zusetzt. In der Wärme und stark saurer Lösung hydrolysiert *Peroxydischwefelsäure* und wird dann mit arseniger Säure reduziert. Zur Endpunktsbestimmung gibt es keinen brauchbaren Indicator, daher werden die elektrischen Anzeigen versucht und als beste ein Platin-Kohle-Elektrodenpaar befunden. Die Kohle, vorher mit konz. Salpetersäure behandelt, ist genügend positiv und weist während der Titration ein praktisch konstantes Potential auf. Auch auf 150 bis 200 mV polarisierte Platin-Elektroden sind zur Endpunktanzeige (Dead stop-Verfahren) brauchbar. In beiden Fällen dient das System Bromid-Bromat als Depolarisator. — *Ausführung. 1. Bestimmung aus einer Einwaage.* Zur 1—2 n schwefelsauren Lösung werden 0,1—0,2 g Kaliumbromid gegeben und die Peroxyschwefelsäure mit 0,1 n arseniger Säure titriert. Nun werden zur Lösung 2 g Kaliumbromid, 2 Tr. einer 0,01 m Osmiumsäurelösung in 0,1 n Schwefelsäure sowie 1—2 ml einer 5%igen Ammoniummolybdatlösung gegeben und die Menge des Wasserstoffperoxyds mit 0,1 n arseniger Säure gemessen. Danach wird der Säuregehalt der Lösung mit Schwefelsäure auf 20—25% erhöht, die Lösung wird auf 60—70° C erwärmt und so die Peroxydischwefelsäure gemessen. — *2. Bei der Bestimmung aus 2 Einwaagen* wird im ersten Anteil die Peroxyschwefelsäure wie oben gemessen, im zweiten Anteil wird nach Zugabe von 2 Tr. Osmiumsäurelösung die gemeinsame Menge von Wasserstoffperoxyd und Peroxyschwefelsäure bestimmt und darauf folgend die Peroxydischwefelsäure wie oben titriert. Das Verfahren eignet sich auch zur Bestimmung anderer Peroxyverbindungen (*Peroxyessigsäure*, *Peroxyphosphorsäuren* usw.).

[1] Magyar Kémiai Folyoirat **64**, 176—180 (1958); Acta chim. Acad. Sci. hung. **17**, 69—80 (1958). Univ. Szeged (Ungarn). — [2] Csányi, L. J., u. F. Solymosi: diese Z. **142**, 423 (1954). — [3] Siehe auch Csányi, L. J., u. F. Solymosi: Anal. chim. Acta **15**, 501 (1956); vgl. diese Z. **157**, 353 (1957). J. Plank

Über die indirekte potentiometrische Bestimmung von Kalium, Rubidium und Caesium auf Grund der Fällung der Tetraphenyloborate berichtet J. Havíř[1]. Die abfiltrierten und gewaschenen Niederschläge werden in Aceton gelöst, in dieser Lösung wird das Tetraphenyloboration mit Silbernitratlösung potentiometrisch titriert[2]. Man titriert in neutralem oder schwach saurem Medium (Säurekonzentration 10^{-3} m) mit frisch versilberter Ag-Indikationselektrode und der gesätt. Kalomelelektrode als Vergleichselektrode. Die Höhe des Potentialsprunges hängt wesentlich vom Acetongehalt der titrierten Lösung ab; maximale Werte des Potentialsprunges werden bei 20—50%iger Konzentration von Aceton erreicht. Halogenionen stören die Bestimmung sehr wegen der eintretenden Mitfällung der Ag-Halogenide mit dem Ag-Tetraphenyloborat. — *Ausführung*: Die zu untersuchende Lösung, die maximal 10 mg Kalium (oder die äquivalente Menge Rubidium oder Caesium) in 100 ml Volumen enthalten soll, fällt man in bekannter Art mit 2%iger Na-Tetraphenyloboratlösung, filtriert durch einen Goochtiegel und wäscht zunächst mit gesätt. K-(Rb- oder Cs-)Tetraphenyloboratlösung und danach mit einer kleinen Menge Wasser. Man löst den Niederschlag in 20—30 ml Aceton, verdünnt die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und titriert mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung zunächst in rascher Tropfenfolge bis zum Potentialwert von 150 mV, dann so, daß man nach jeder Zugabe des gleichen Volumens von Agens intensiv mischt, 1 min stehen läßt und dann erst abliest. — Die Resultate sind mit $\pm$ 2,0%igem relativem Fehler reproduzierbar.

[1] Chem. Listy **52**, 1274—1278 (1958) [Tschechisch]. Techn. Militärakad., Brno (Brünn) (ČSR). — [2] Rüdorff, W., u. H. Zannier, diese Z. **137**, 1 (1952/53); F. E. Crane jr.: Analyt. Chemistry **28**, 1794 (1956); Anal. chim. Acta **16**, 370 (1957); vgl. diese Z. **157**, 40 (1957); **160**, 310 (1958). M. Hřivnáč

Um radioaktives Caesium aus sehr verdünnten Lösungen abzuscheiden, auch solchen, die noch andere Bestandteile enthalten, filtriert T. Hara[1] die Lösung durch eine Schicht von Thalliumphosphormolybdat und mißt nach dem Waschen und Trocknen die Radioaktivität der Filterschicht. 500 μg Cs in 2 l lassen sich dabei noch erfassen. Diese Menge kann von 156 mg Thalliumphosphormolybdat gerade noch aufgenommen werden. NH_4Cl, RbCl, Na_2WO_4, $NaNO_2$, $TlNO_3$ und größere Mengen K_2SO_4 stören. Die Fehler der Methode, die sich auch zur *Bestimmung des radioaktiven Caesiums im Wasser* eignet, liegen unter 5%. — *Ausführung*. Man versetzt eine Mischung aus 50 ml Thalliumnitratlösung (1 mg Tl in 1 ml 2%iger Salpetersäure), 4 ml konz. Salpetersäure und 126 ml Wasser mit 20 ml einer 2%igen Lösung von Phosphormolybdänsäure in 2%iger Salpetersäure, dampft auf etwa 7 ml ein, filtriert durch einen Glasfiltertiegel und wäscht mit 2%iger Salpetersäure. Dann filtriert man die Probelösung, die ebenfalls 2%ig an Salpetersäure sein soll, mit einer Geschwindigkeit von höchstens 2 Tr. in 3 sec durch den Niederschlag, wäscht erst mit 2%iger, dann mit konz. Salpetersäure, trocknet 1 Std bei 120° C und mißt die Aktivität des Niederschlags mit einem Geiger-Müller-Zähler. — Bei Gegenwart von ^{90}Sr und radioaktiven Seltenen Erden gibt man zur Lösung 5 mg Fe^{3+}- und 10 mg Ca^{2+}-Ionen, fällt mit 50 ml 1%iger Sodalösung, filtriert, bringt die Lösung auf einen HNO_3-Gehalt von 2% und verfährt weiter wie beschrieben.

[1] Bull. chem. Soc. Jap. **31**, 635—640 (1958). Doshisha Univ. Kamikyo-ku, Kyoto (Japan). G. Denk

Über die Mitfällung des Caesiums mit wenig löslichen Dipikrylaminaten stellten I. M. Korenman und G. A. Šatalina[1] Untersuchungen an. Bei den Versuchen wurde 1 ml Salzlösung, [K- (1 mg), Tl- (2,5 mg)] die 12 μg Caesium enthielt, mit 1—3 ml 1%igem Na-Dipikrylaminat gefällt. Die Mitfällung von Cs erwies sich bei Tempera-

turen von 0—30° C als praktisch vollständig. Bei Steigerung der Temperatur bis 80° C sank die Mitfällung von Cs infolge gesteigerter Löslichkeit des Niederschlages, der Gehalt an Cs in der Gewichtseinheit des K- oder Tl-Dipikrylaminats blieb jedoch konstant. Die Mitfällung erfolgt isomorph; Adsorption ist nicht als Ursache des Mitfällens zu betrachten. Vergleichende Versuche mit K-, Tl-, Rb- und NH_4-Dipikrylaminat ergaben, daß zur Ausscheidung von Cs-Spuren NH_4-Dipikrylaminat am besten geeignet ist. — *Ausführung.* 100 ml einer Lösung, die 70 mg NH_4NO_3 und 12 μg Cs enthält, werden mit einer 1%igen Lösung von Na-Dipikrylaminat gefällt; nach 24 Std wird filtriert und der Niederschlag im Tiegel bei 300° C zersetzt, wobei sich alles bis auf Caesiumoxyd verflüchtigt. Der spurenförmige Rückstand wird in 1 Tr. Wasser gelöst und das Cs mikrokristalloskopisch als $Cs[BiJ_4]$ nachgewiesen.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 299—303 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Lobačevskij-Univ., Gorki (UdSSR). A. v. Wilpert

Kupfer. I. Grecu, V. Handelsmann und J. Bucerzan[1] beschreiben ein Verfahren zur gewichtsanalytischen Kupferbestimmung, das auf der Fällung und Wägung des *Kupfer(II)-nitroprussiats*, $Cu[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$, beruht. Die Analysenfehler betragen bei der Bestimmung von 0,01—0,09 g Cu einige Zehntel Prozente. Fe^{2+}, Zn^{2+}, Pb^{2+}, Al^{3+}, Mn^{2+}, Fe^{3+}, Bi^{3+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Sr^{2+}, Ba^{2+} beeinflussen die Bestimmung nicht. Ag^+, Hg^{2+}, Cd^{2+}, Ni^{2+} und Co^{2+} stören, da sie ebenfalls gefällt werden. — *Ausführung.* Man löst die Probe in 10—20 ml Wasser, fügt 10 ml 10%ige Ammoniumnitratlösung zu und fällt unter Rühren mit einer wäßrigen 3%igen Nitroprussidnatriumlösung, bis die gelbe Farbe der überstehenden Lösung einen Überschuß an Fällungsmittel anzeigt. Zur Beschleunigung des Absitzens des Niederschlages stellt man für 5 min in ein heißes Wasserbad. Nach weiteren 15—20 min filtriert man in einen Filtertiegel, wäscht zunächst mit einer Lösung, die 3% Ammoniumnitrat und 0,2% Nitroprussidnatrium enthält, dann zur Entfernung des Reagensüberschusses mit wenig Wasser, schließlich mit Alkohol und Äther, trocknet im Vakuum und wägt als $Cu[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$.

[1] Farmacia (Bucureşti) **6**, 233—236 (1958) [Rumänisch]. (Mit russ., dtsch., engl. u. franz. Zus.fass.). Fakultät f. Pharm. Cluj (Rumänien). A. Kurtenacker

Nach D. Ceauşescu[1] läßt sich Kupfer durch konduktometrische Endpunktsanzeige mit *Natriumthiosulfatlösung* direkt titrieren. Wenn nach der Gleichung $2Cu^{2+} + 2S_2O_3^{2-} + 2SCN^- = 2CuSCN + S_4O_6^{2-}$ der Äquivalenzpunkt erreicht ist, weist die Leitfähigkeitskurve einen deutlichen Knick auf. — *Ausführung.* Man fügt zu 5 ml 0,1 n Kupfersulfatlösung 7—14 ml 0,1 n Kaliumrhodanidlösung, verdünnt auf 100 ml und titriert mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung. Der Endpunkt wird gleichfalls gut angezeigt, wenn die Thiosulfatlösung vorgelegt und mit Kupfersulfatlösung titriert wird.

[1] Studii. Cercetări. Chim. (Cluj) **8**, 285—290 (1957) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Inst. igienă R.P.R., Fil. Timişoara (Rumänien). G. Denk

O. B. Budevskij[1] trennt das Kupfer von störenden Beimengungen durch Zementation mit metallischem Eisen und bestimmt es dann *komplexometrisch* mit ÄDTA und Murexid als Indicator. Co, Ni, Cd stören nicht. Der Gehalt der Probe (0,25 g) an Sb, Bi und As soll 1% nicht übersteigen. Größere Mengen Ammoniumsulfat (über 3 g) stören die Zementierung stark. Diese Methode wurde auf verschiedene Materiale wie *Messing* und *Kupferkonzentrate* angewendet. — *Arbeitsweise.* Zur siedenden 0,4—1,2 n schwefelsauren Kupfersalzlösung (mit 20—50 mg Cu) gibt man eine wäßrige Suspension von 500—750 mg Eisenpulver und hält bis zum Aufhören

der Wasserstoffentwicklung im schwachen Sieden. (In stärker saurer Lösung ist die Cu-Fällung unvollständig.) Hierauf dekantiert man vom schwammig ausgeschiedenen Kupfer durch ein weiches Filter ab, wäscht mit heißem Wasser und verwirft das Filtrat. Das auf das Filter gelangte Kupfer wird mittels einiger Tropfen (etwa 1 ml) Salpetersäure gelöst und in das Becherglas zurückgegeben. Die erhaltene Lösung wird fast bis zur Trockne eingedampft, mit 100—150 ml Wasser aufgenommen und dann mit soviel 10—12%igem Ammoniak versetzt, daß das ausgefallene Kupferhydroxyd gerade wieder in Lösung geht. Nach der Zugabe von Murexid wird mit 0,05 m ÄDTA-Lösung titriert, deren Titer vorher gegen metallisches Kupfer eingestellt worden ist.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 535—537 (1958) [Russisch]. Wiss. Forsch.-Inst. f. Metallurgie und Gebrauchsmineralien, Sofia (Bulgarien). K. Hertzog

In Fortführung ihrer Untersuchungen über die Verwendung von *Natrium-Alizarin-3-sulfonat* (Alizarinrot S)[1] beschreiben A. K. Mukherji und A. K. Dey[2] die *colorimetrische Bestimmung des zweiwertigen Kupfers*. Die Farbintensität der entstehenden Komplexverbindung mit dem Molverhältnis 1:1 bleibt mindestens 72 Std konstant. Mit einer 1 cm-Zelle können noch 6,4 ppm Cu erfaßt werden. Viele Ionen stören, wenn ihr Gehalt größer als einige ppm ist. — *Ausführung*. Man versetzt die Probelösung mit einem zehnfachen molaren Überschuß frisch bereiteter 0,0002 m Lösung von Alizarinrot S in CO_2-freiem Wasser, stellt p_H 4—6 ein und mißt die Extinktion bei 500 mμ im Temperaturbereich zwischen 20 und 30° C.

[1] Proc. Nat. Acad. Sci., India **27** A, 20, 2421 (1957). — J. Indian. chem. Soc. **34**, 461 (1957).; vgl. diese Z. **162**, 118 (1958). — Vijñāna Pari. Anu. Patrikā **1**, 23 (1958). — [2] Bull. chem. Soc. Japan **31**, 521—524 (1958) Univ. Allahabad (Indien).

G. Denk

Kupfer, Zink und Nickel lassen sich nach G. C. Krijn[1] mit *Thioacetamid (TAA)* einfach bestimmen. Nach dem Abtrennen des Kupfers aus saurer Lösung als Sulfid mit TAA[2] im Überschuß verhindert der Zusatz von ÄDTA zum ammoniakalisch gestellten Filtrat die Bildung von Zink- und Nickelsulfid. Die Zugabe von $CaCl_2$ macht nur das Zink frei; ZnS fällt aus. In dessen Filtrat wird Nickel bestimmt. — *Ausführung*. Die möglichst neutrale Lösung, die in 200 ml etwa 200 mg der Metalle enthält, wird mit 10 ml 4 n Salzsäure und 10 ml 0,5 m Thioacetamidlösung versetzt und $^1/_2$ Std bei Siedetemperatur gehalten. Der Kupfersulfidniederschlag wird filtriert, naß verascht, zu CuO verglüht und Cu dann jodometrisch bestimmt. Dem Filtrat werden erneut 7 ml TAA, 10 ml 25%iges Ammoniak und 30 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung zugefügt. Nun gibt man tropfenweise 12 ml 0,5 m $CaCl_2$-Lösung zu und hält $^1/_2$ Std bei 80—90° C (nicht kochen). Das ZnS wird filtriert und Zn als Pyrophosphat bestimmt. Im Filtrat müssen überschüssiges TAA und Komplexon durch Eindampfen mit 15 ml 60%iger Salpetersäure und 20 ml 30%iger Wasserstoffperoxydlösung für die Ni-Bestimmung mit Diacetyldioxim restlos zerstört werden. Die Ergebnisse sind mit gut bezeichnet.

[1] Chem. Weekbl. **54**, 499—500 (1958) [Holländisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Univ. Amsterdam (Holland). — [2] Flaschka, H., u. H. Jakobljewich: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **4**, 482 (1950); vgl. diese Z. **134**, 36 (1951/52). E. Bankmann

Zur Silberbestimmung in Gegenwart großer Mengen Cu und Ni ist nach K. C. Seal[1] die Methode von Volhard nur bedingt brauchbar. Der Verf. titriert deshalb mit Jod-Jodidlösung in natriumacetat- oder -hydrogencarbonatgepufferter Lösung und Stärke als Indicator. Jod und Jodid reagieren hier nach der Bruttogleichung: $5\,Ag^+ + 3\,J_2 + 3\,H_2O = 5\,AgJ + HJO_3 + 5\,H^+$. Beim ersten Überschuß an

Maßlösung tritt Blaufärbung ein. Man stellt die Jod-Jodidlösung (10 g KJ in 15—20 ml Wasser + 6,3 g Jod p. a.; auffüllen auf 2 l) gegen eine bekannte $AgNO_3$-Lösung ein (Blindwertkorrektur). — *Ausführung.* 2,5 g Probe werden in Salpetersäure (D 1,2) gelöst, mit 10 ml konz. Schwefelsäure versetzt und die Säuren sodann weitgehend abgeraucht. Der Rückstand wird in Wasser aufgenommen, wenn nötig filtriert, und auf 250 ml aufgefüllt. Ein aliquoter Anteil wird mit konz. $NaHCO_3$-Lösung neutralisiert und nach Zugabe von 25 ml 20%iger Natriumacetatlösung und 2—3 ml 1%iger Stärkelösung wie gewöhnlich titriert. Kupfer und Nickel stören dabei nicht. Die Abweichungen sind bei der Bestimmung von 4—50 mg Ag nicht größer als $\pm$ 1%.

[1] J. Indian chem. Soc. **35**, 453—454 (1958). Government Test House, Alipore, Calcutta (Indien). E. Bankmann

Komplexometrische Titration von Calcium bei Gegenwart von Magnesium. Durch photometrische Titration mit ÄDTA-Lösung bei p_H 12,4—12,5 kann nach A. D. Kenny und V. H. Cohn[1] Calcium neben einem 16fachen Überschuß an Magnesium bestimmt werden. — *Ausführung.* Man verdünnt die neutrale Probelösung im Colorimetergefäß auf 9 ml, fügt 2 ml 0,2 n Natronlauge, 1 Tropfen einer 20%igen Lösung von 2-Octanol in Alkohol und 0,3 ml 0,2%ige Ammoniumpurpuratlösung hinzu und titriert mit ÄDTA-Lösung (0,18 g Na_2H_2Y im Liter) unter Beobachtung bei 520 mμ. Zur guten Durchmischung leitet man Stickstoff hindurch. Nach jeweils 0,2 ml mißt man die Lichtdurchlässigkeit und trägt die gefundenen Werte halblogarithmisch auf, wobei der Schnittpunkt der beiden Geraden dem Äquivalenzpunkt entspricht.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1366—1368 (1958). Harvard School Dental Med., Boston, Mass. (USA). G. Denk

Eine Studie über die Extraktion des Zinkdithizonates mit verschiedenen Lösungsmitteln haben G. K. Schweitzer und C. B. Honaker[1] angestellt. — *Ausführung.* 12 Proben mit 10,00 ml einer 10^{-5} m Zink-Testlösung werden durch Zugabe von Perchlorsäure oder Natronlauge auf einen bestimmten p_H-Wert eingestellt, und die Lösung wird in 25 ml-Erlenmeyer-Kolben mit Glasstopfen übergespült. Nach Zugabe von genau 5,00 ml Dithizonlösung ($1{,}8 \cdot 10^{-3}$ m in 5 verschiedenen Lösungsmitteln, $CHCl_3$, CCl_4, C_6H_6, C_6H_5Cl und CH_2Cl_2) wird 8 Std bei 30° $\pm$ 0,5° C gerührt. Danach wird jeweils 1,00 ml der organischen Phase abgenommen, mit 10,00 ml Lösungsmittel verdünnt und das Zink spektrophotometrisch bestimmt. Daneben mißt man wieder den p_H-Wert der wäßrigen Phase. Auf diese Weise werden die Löslichkeiten des Dithizons und des Zink-Dithizonates in den verschiedenen Lösungsmitteln bestimmt und ihre Absorptionsspektren zwischen 350—700 mμ aufgenommen. Daneben wird der Einfluß des p_H-Wertes und der Lösungspartner überprüft. Phthalat, Citrat, Oxalat, Nitrilotriacetat und Äthylendiamintetraacetat verändern oder verhindern die Extraktion. Unter den Lösungsmitteln zeigt Chloroform die größte Löslichkeit für beide Komplexe, während die anderen Lösungsmittel weniger geeignet sind.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 224—228 (1958). Univ. Knoxville und Wesleyan College, Athens, Tenn. (USA). H. Pohl

Bestimmung von Zink und Cadmium nebeneinander. P. K. Agasjan[1] beschreibt ein potentiometrisches Verfahren, bei dem die Titration mit *Hexacyanoferrat(II)-lösung* erfolgt. Zink gibt mit dem Reagens einen Niederschlag der Formel $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$, während die Zusammensetzung des Niederschlages mit Cd von den herrschenden Bedingungen, wie p_H-Wert, Fremdelektrolytkonzentration usw.

abhängt. Unter den optimalen Bedingungen [0,2 m an Essigsäure, Temperatur 60—70° C während der ganzen Titration, gute Rührung und zweiminutiges Warten vor der Ablesung nach jeder Zugabe von 0,02 m $K_4Fe(CN)_6$-Lösung] erhält man zwei Stufen: eine bei 600—500 mV (Zn) und eine bei 350—250 mV (Cd) bei Verwendung des Elektrodenpaars Platin/gesätt. Kalomelelektrode. Bei einem kleinen Konzentrationsverhältnis Zn : Cd ist die erste Stufe sehr klein. Deshalb bestimmt man erst in 0,2 m salzsaurer Lösung das Zink potentiometrisch und dann in 0,2 m essigsaurer Lösung die Summe von Zink und Cadmium. Die Methode ist für die *Analyse von Luminophoren*, die CdS und ZnS enthalten, geeignet. Eine Bestimmung dauert etwa 30 min. — *Analysengang.* Man löst 0,2—0,3 g des Luminophors unter Erwärmen in 10 ml 1 : 1 verdünnter Salzsäure, verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne und löst den trockenen Rückstand in Wasser zu einem Volumen von 100 ml. Zur Titration versetzt man aliquote Teile (20—25 ml) mit soviel Essigsäure, daß die zu titrierende Lösung 0,2 m daran wird, verdünnt mit Wasser auf 50 ml, erhitzt auf 60—70° C und gibt 1 ml 1%ige $K_3Fe(CN)_6$-Lösung zu. Dann titriert man potentiometrisch unter gutem Rühren mit 0,02 m $K_4Fe(CN)_6$-Lösung. Erhält man bei der Titration nur eine Stufe (bei 300—200 mV), so nimmt man von der Analysenlösung einen zweiten aliquoten Teil ab, macht ihn 0,2 m an Salzsäure und titriert wie oben beschrieben. Der Titer der $K_4Fe(CN)_6$-Lösung wird unter den gleichen Bedingungen gegen reine Zink- und Cadmiumlösungen eingestellt.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 532—534 (1958) [Russisch]. Lomonosov-Univ., Moskau. H. Nieswand

Sheau-Shya Kao und Wen-Teh Chuang[1] beschreiben *Simultantitrationen von Zink und Cadmium mit Hexacyanoferrat(II)-lösung* nach der Dead stop-Methode. Bei einer Spannung von 50 mV wird Zink in 1 m Salzsäurelösung mit Hexacyanoferrat quantitativ gefällt und nach Zugabe von 9 g Ammoniumsulfat je 60 ml Lösung auf Cadmium weiter titriert. Beide Äquivalenzpunkte sind am steilen Stromanstieg erkennbar. In zwei verschiedenen Proben werden in je 5 Vergleichsbestimmungen Gehalte von 10,12 ± 0,02% Zn neben 61,94 ± 0,05% Cd bzw. 1,46 ± 0,01% Zn neben 78,95 ± 0,04% Cd ermittelt.

[1] Acta chim. sinica **24**, 25—29 (1958) [Chinesisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Peking (China). K. Cruse

Acidimetrische Borsäurebestimmung. Bei der acidimetrischen Titration der Borsäure in Gegenwart von Mannit oder Invertzucker stören Säuren und Metallionen. Wenn diese durch Neutralisation mit $CaCO_3$ oder $BaCO_3$ entfernt werden, werden größere Bormengen durch den Niederschlag mitgerissen. Nach V. R. Jankovskij und L. V. Jankovskaja[1] werden die Fehler vermieden, wenn man die störenden Ionen nach G. Brunisholz und J. Bonnet[2] durch einen Kationenaustauscher entfernt. Die Arbeitsweise dieser Autoren wird etwas abgeändert. — *Analysengang.* Etwa 0,5 bis 3—4 g Probe, je nach dem Borgehalt, werden in der üblichen Weise gelöst und mit 40 ml 5%iger Salzsäure am Rückflußkühler gekocht. Nach der Abkühlung füllt man die Lösung mit dem unlöslichen Rückstand in einem 250 ml-Meßkolben auf, filtriert und verwendet für die weitere Durchführung der Analyse einen aliquoten Teil, der nicht mehr als 80 mg B_2O_3 enthalten soll. Man neutralisiert den Säureüberschuß durch portionsweise Zugabe von CO_2-freier, 4%iger Natronlauge bis zum Auftreten einer Trübung, welche man mit einigen Tropfen 5%iger Salzsäure wieder in Lösung bringt. Die Austauschersäule wird mit 9—10 g Kationit KU-2 oder SDW-3 beschickt, der wie üblich mit 7%iger Salzsäure in die Säureform übergeführt wird und ebenso regeneriert werden kann. Man läßt die oben erhaltene Lösung durch die Austauschersäule mit einer Geschwindigkeit von nicht mehr als 5 ml/min laufen und wäscht 5—6mal mit je 15—20 ml Wasser

nach. Die vereinigten Filtrate werden mit 2 Tropfen Methylrotlösung versetzt, mit 4%iger Natronlauge bis zum Verschwinden der roten Farbe neutralisiert und mit einer kleinen Menge Salzsäure bis zur schwach sauren Reaktion wieder angesäuert. Nunmehr wird mit carbonatfreier 0,1 n Natronlauge genau neutralisiert. Danach setzt man 15 Tropfen Phenolphthaleinlösung sowie 0,5—0,7 g Mannit zu und titriert bis zur beständigen Rosafärbung. Dann wiederholt man die Zugabe von Mannit und titriert wieder auf die Rosafärbung, bis sie bei weiterer Zugabe von Mannit bestehen bleibt. Bei kleinen Gehalten an B_2O_3 verwendet man an Stelle von Phenolphthalein Phenolrot. Parallel wird eine Blindprobe durchgeführt.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 538—540 (1958) [Russisch]. — [2] Helv. chim. Acta **34**, 2074 (1951); vgl. diese Z. **136**, 138 (1952). H. Nieswand

Die komplexe Säure, die aus Borsäure und *Calciumgluconat* entsteht (Molverhältnis 1 : 2), ist nach C. Liteanu und E. Moţiu[1] so stark dissoziiert, daß sie ähnlich wie die Mannitborsäure mit Natronlauge titriert werden kann. Der Äquivalenzpunkt kann sowohl mit Phenolphthalein als auch konduktometrisch oder potentiometrisch erfaßt werden. Auf 1 Mol Borsäure müssen 2,5 Mol Calciumgluconat hinzugefügt werden; Mengen über 2 mg H_3BO_3 lassen sich mit der gleichen Genauigkeit wie mit Mannitzusatz titrieren.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **8**, 243—250 (1957) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Acad. R. P. R., Fil. Cluj (Rumänien). G. Denk

Für die Bestimmung von Tetraphenyloboration und seinen Salzen geben H. Flaschka und F. Sadek[1] ein neues maßanalytisches Verfahren an. Es beruht darauf, daß 1 Mol Tetraphenyloborat in wäßrig-acetonischer Lösung mit überschüssigem Quecksilber(II)-ÄDTA-Komplex unter Freisetzung von 4 Molen ÄDTA reagiert, die in acetatgepufferter Lösung mit Zinkmaßlösung unter Verwendung von PAN-Indicator sehr scharf titriert werden können. Die Analysenfehler liegen in der Größenordnung des Tropfenfehlers. Durch „Pendeln" kann der Fehler weiter verringert werden. Das Verfahren kann zur *Bestimmung von Kalium* und anderen Ionen dienen, die schwerlösliche Tetraphenyloborate bilden, sofern die Ionen nicht mit Quecksilber unter Komplexbildung reagieren (was z. B. einige Aminoverbindungen tun). — *Ausführung.* Man fällt das zu bestimmende Ion in bekannter Art als Tetraphenyloborat, filtriert und wäscht den Niederschlag und löst ihn dann auf dem Filter in kleinen Anteilen Aceton. Die Lösung wird mit einem Überschuß Quecksilber(II)-ÄDTA-Lösung (Gemisch äquivalenter Volumina aufeinander eingestellter 0,1 n ÄDTA- und 0,1 m $HgNO_3$-Lösungen) versetzt und mit Wasser auf etwa 200 ml verdünnt. Man fügt dann 5—10 ml 2,5 m Acetatpuffer (p_H 6—6,3) und einige Tropfen 0,1%ige methanolische PAN-Lösung zu, titriert mit 0,1 m $ZnCl_2$-Lösung (aus reinstem Zink und Salzsäure hergestellt) bis zur Orange- oder Rotfärbung und hierauf mit 0,1 m ÄDTA-Lösung bis zur rein gelben Farbe zurück. Der Farbumschlag kann durch Zugabe von 0,05%iger Methylenblaulösung noch schärfer gemacht werden. Er erfolgt dann von Violett nach Smaragdgrün.

[1] Chemist-Analyst **47**, 30—31 (1958). Univ. Chapel Hill, North Carolina (USA). A. Kurtenacker

Aluminium. *Für die polarographische Bestimmung geringer Mengen Aluminium* haben M. Perkins und G. F. Reynolds[1] eine eingehende Prüfung der Methode von H. H. Willard und J. A. Dean[2] durchgeführt und insbesondere den Einfluß von Be, B, Ca, Mg, Zn, Sb, Pb, As, Co, Th, Ti^{IV}, V^{V}, Zr, Fe^{III}, Ni, Mo, Cd, Cu, Sn, Mn, P, U, Fluorid, Citrat und Oxalat auf das Polarogramm von Solochromviolett RS (= Pontachromviolett SW) in Gegenwart von Aluminium untersucht. Eindeutig

resultiert, daß Be, B, Ca, Mg, Mn und Zn auch in großem Überschuß ohne Einfluß sind. Die übrigen Elemente bzw. Ionen verursachen große Fehler, auch Uran, obwohl hier weniger die Komplexbildung als die Reduktion $U^{VI} \rightarrow U^{V}$ als Störungsursache angesehen werden muß[3].

In einer weiteren Mitteilung berichten M. Perkins und G. F. Reynolds[4] auch über den *Mechanismus der Reaktion von Aluminium mit Solochromviolett RS*. Aus Untersuchungen bei p_H-Werten von 1,95—10,08 geht hervor, daß zwei verschiedene Komplexe gebildet werden. Die Elektronigkeit der polarographischen Reaktionen, Halbstufenpotentiale und Diffusionsstromkonstanten werden bestimmt und diskutiert.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **18**, 616—624 (1958). Ministry Supply, Woolwich (England). — [2] Analyt. Chemistry **22**, 1264 (1950); vgl. diese Z. **133**, 439 (1951). — [3] Über die Bestimmung von Aluminium in Berylliummetall nach dem vorstehenden Verfahren siehe M. Perkins und G. F. Reynolds: Anal. chim. Acta **18**, 625 (1958); vgl. diese Z. **167**, 209 (1959). — [4] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 54—64 (1958).

K. Cruse

Für die Bestimmung der Seltenen Erden nebeneinander fand A. Almásy[1] die selektive Elution der adsorbierten Ionen geeignet. Es wurde beobachtet, daß durch Änderung des p_H-Wertes des Lösungsmittels die adsorbierten Ionen nacheinander eluiert werden können, nur muß die Einstellung des p_H-Wertes sehr genau vorgenommen werden. Als Lösungsmittel wurde Milchsäure verwendet, da diese einen höheren Trennungseffekt besitzt als Citronensäure. — *Ausführung.* Man scheidet aus der Probe die Seltenen Erden als Oxalate gemeinsam ab, löst ihre Oxyde in Salzsäure, verdampft den Säureüberschuß und schmelzt die Lösung in eine Ampulle ein. Nun setzt man die Lösung der Strahlung einer Neutronenquelle aus, bis die Erdmetalle eine meßbare Aktivität erreichen und gibt auf eine enge Ionenaustauschersäule (Dowex 50, H-Form), auf der die Ionen der Seltenen Erden adsorbiert werden. Der Apparat ist dem von B. H. Ketelle und G. E. Boyd[2] nachgebildet. Zur Elution dient eine molare Milchsäurelösung, welche 0,1 molar an Phenol ist[3]. Der benötigte p_H-Wert dieser Lösung wird durch Mischen mit Anteilen derselben Lösung eingestellt, die man zuvor mit NH_3-Gas alkalisch gemacht hat. Das Herauslösen beginnt mit dem Lösungsmittel von p_H 3,00. Die aus der Säule ausfließende Lösung fließt durch den Mantel einer Geiger-Müller-Röhre, welche so lange Impulse empfängt als aktivierte Ionen in der Lösung vorhanden sind. Ist eine Ionenart desorbiert, klingen die Impulse ab und die Elution des nächsten Ions wird mit einer Lösung von größerem p_H-Wert fortgesetzt, bis wieder das Aufhören der Impulse die Desorption des Ions anzeigt. In dieser Weise werden die Seltenen Erden durch Erhöhen des p_H desorbiert und voneinander getrennt

Tabelle

p_H-Werte der zur stufenweisen Elution der Seltenen Erden benutzten Milchsäurelösung

p_H-Wert	3,00	3,05	3,10	3,15	3,25	3,30	3,44	3,50
Elemente	Sc, Lu, Yb	Tm, Er, Ho	Y, Dy, Tb	Gd, Eu	Sm (Pm)	Nd, Pr	Ce	La

(siehe Tabelle). Aus den erhaltenen getrennten Lösungsanteilen werden die einzelnen Seltenen Erden mit Oxalsäure gefällt und die Niederschläge verglüht. Die Ergebnisse sind befriedigend, der relative Fehler beträgt im Mittel — 6 bis — 14%.

[1] Acta chim. Acad. Sci. hung. **17**, 55—68 (1958). Forsch. Inst. schwere Chem. Ind., Veszprém (Ungarn). — [2] J. Amer. chem. Soc. **69**, 2800 (1947). — [3] Nervik, W. E.: J. Phys. Chem. **59**, 690 (1955).

J. Plank

Ein Verfahren zur colorimetrischen Mikrobestimmung von Uran auf Grund der durch α,α′-Dipyridyl aktivierten Reaktion von Uran(IV) mit Eisen(III) haben Gy. Almássy und A. Kiss[1] ausgearbeitet. Fe^{III} wird zu Fe^{II} reduziert, das mit α,α′-Dipyridyl die bekannte Rotfärbung gibt. Die Reduktion von U^{VI} wird in 5—6 n schwefelsaurer Lösung im Wismutreduktor vollzogen. Die Menge des zugesetzten α,α′-Dipyridyls ist nicht von Belang, dagegen ist nur wenig Eisen(III)-chlorid zu verwenden, da die Extinktion der uranhaltigen ebenso wie die der uranfreien Lösung mit zunehmender Eisen(III)-chloridmenge ansteigt. Die Extinktion nimmt auch mit der Zeit zu, am besten wird die Messung gleich nach dem Vermischen vorgenommen. — *Ausführung.* Eine Lösung von 1 mg Uran mit 2 ml Schwefelsäure (1 + 1) wird auf einen 10 cm hohen 1 cm weiten Wismutreduktor (0,05—0,1 mm Korngröße) aufgegeben. Man wäscht zweimal mit je 3 ml Wasser nach und sammelt die ablaufende Lösung in einem 25 ml-Meßkolben. Nach dem Auffüllen zur Marke werden 2,5 ml entnommen, in einem 25 ml-Meßkolben mit 0,5 ml Eisen(III)-chloridlösung mit 250 μg Eisen(III)/ml versetzt und nach Zugabe eines Tropfens 0,05%iger alkohol. Bromphenolblaulösung mit 15%iger Natriumacetatlösung auf p_H 4,7 eingestellt. Nun werden 0,5 ml 0,56%ige, wäßrige α,α′-Dipyridyllösung zugegeben, die Lösung aufgefüllt, vermischt und die Extinktion im Pulfrich-Photometer mit dem Filter S 50 in 5 cm-Schicht sofort gemessen. Die in derselben Weise mit bekannten Uranmengen ausgeführten Messungen ergeben eine gerade Eichlinie. Die kleinste meßbare Menge beträgt ungefähr 0,2 μg Uran/ml. Die Bestimmung wird von Fremdionen gestört. Um diese Störungen zu vermeiden, wird Uran mit einem Gemisch von 24 T. Tributylphosphat und 76 T. Benzin (D 0,87) extrahiert und aus dieser Lösung mit 25 ml 0,2 m Ammoniumcarbonatlösung in die wäßrige Phase reextrahiert. Die Ergebnisse sind sehr befriedigend. Die optimalen Verhältnisse der Extraktion sollen in einer folgenden Mitteilung beschrieben werden.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 170—173 (1958) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.) Zentralforsch.-Inst. f. Physik, chemische Abt. des Atomreaktors, Budapest (Ungarn). J. Plank

Die polarographische Reduktion von Plutonium(VI) zu Plutonium(V) mit der Quecksilbertropfelektrode bei Gegenwart verschiedener Komplexbildner wurde von G. P. Cook, J. K. Foreman und E. F. Kemp[1] untersucht. Die Messungen wurden unter Stickstoff bei 25° ± 0,5° C durchgeführt. Die Lösungen enthielten 10 -20 mg Pu^{VI} in 1 ml 0,5 n Salpetersäure. — In Natriumoxalat-Oxalsäurelösungen mit dem p_H-Wert 3,5—4,5 und der Gesamtoxalatkonzentration 0,18 m wurde das reversible Halbstufenpotential zu — 0,207 ± 0,002 V gegen die gesätt. Kalomelelektrode gefunden. Das gebildete Pu^{V} disproportioniert in der Oxalatlösung über Zwischenstufen in Pu^{III} und Pu^{VI}.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 174—179 (1958). Atomic Energy Authority, Windscale Works, Calderbridge, Cumberland (Großbritannien). G. Denk

Germanium. Da bei der *colorimetrischen Bestimmung des Germaniums über das Molybdänblau* Fehler bis zu 100% auftreten können, haben E. R. Shaw und J. F. Corwin[1] die Reaktion eingehend untersucht. Als wesentlicher Faktor erwies sich die Zeit zwischen der Zugabe von Ammoniummolybdat und dem Reduktionsmittel. Ferner beeinflussen die Säurekonzentration und die Molybdatmenge die Ergebnisse. Die Versuche führten zu folgender *Arbeitsvorschrift*, bei der die Fehler meist nicht über 5% liegen: Man neutralisiert die Probelösung, verdünnt soviel im Meßkolben auf 100 ml, daß 0,1—0,3 mg GeO_2 darin enthalten sind, pipettiert einen aliquoten Teil in einen 100 ml-Meßkolben, in dem sich 2,0 ml 4 n Schwefelsäure befinden und

spült mit soviel Wasser nach, daß das Volumen insgesamt 36 ml beträgt. Dann fügt man 8 ml Ammoniummolybdatlösung [5 g $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4\,H_2O$ + 2,8 ml konz. H_2SO_4 in 100 ml] und nach 1,0 ± 0,2 min rasch 50 ml der mit Schwefelsäure verdünnten, reduzierenden Lösung (5 g Mohrsches Salz + 250 ml Wasser + 1 ml konz. H_2SO_4; vor Gebrauch werden 5 ml mit 20 ml 4 n Schwefelsäure versetzt) hinzu und füllt zur Marke auf. Nach 20—30 min mißt man die Lichtabsorption in einer 1 cm-Zelle bei 825 mμ gegen dest. Wasser. — Es sollen nur Polyäthylengefäße verwendet werden.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1314—1316 (1958). Antioch College, Yellow Springs, Ohio (USA). G. Denk

Ein neues Reagens für den fluorimetrischen Nachweis von Zinn. Im Rahmen von Untersuchungen[1] über die Verwendung von Naphthalinderivaten in der anorganischen Analyse fanden J. R. A. Anderson, J. L. Garnett und L. C. Lock[2], daß in der *6-Nitro-2-hydroxynaphthalin-8-sulfonsäure* ein besonders empfindliches und spezifisches Reagens zum Nachweis von Zinn(II) vorliegt. Von 55 untersuchten Metallionen zeigt nur Sn^{2+} im UV nach Besprühen mit 15 n Ammoniak intensiv blaue Fluorescenz. (Die Durchführung der Tüpfelprobe mit einer 0,1%igen wäßrigen Lösung des Ammoniumsalzes wurde bereits früher beschrieben[1].) Die Messung wird bei 365 mμ durchgeführt; 10^{-8} g Sn können noch erfaßt werden. — Die *Darstellung des Reagenses* erfolgt durch Nitrieren von 2-Aminonaphthalin-8-sulfonsäure nach P. Friedländer und P. Lucht[3] zur 6-Nitro-2-aminonaphthalin-8-sulfonsäure. 10 g des Ammoniumsalzes dieser Säure teigt man mit 80 ml Wasser an, gibt 60 g Eis und 14 ml konz. Salzsäure dazu und diazotiert bei 0°—5° C mit 3 g $NaNO_2$ in 20 ml Wasser innerhalb von 5 min. Man rührt 2 Std bei dieser Temperatur, filtriert dann das gelbe Diazoniumsalz ab, fügt 400 ml 2 n Schwefelsäure hinzu und kocht, bis keine nitrosen Gase mehr entweichen und mit alkalischer Phenollösung keine Farbreaktion mehr erfolgt. Man filtriert heiß, engt auf dem Wasserbad ein und läßt abkühlen. Die gelben Nadeln der 6-Nitro-2-hydroxynaphthalin-8-sulfonsäure werden filtriert und aus 50%igem Alkohol umkristallisiert. Das Ammoniumsalz erhält man durch Auflösen in heißem 50%igem Alkohol und Neutralisieren mit Ammoniumcarbonat. Das Salz wird aus Wasser umkristallisiert.

[1] Anderson, J. R. A., u. J. L. Garnett: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **8**, 393 (1953); **17**, 452 (1957); vgl. diese Z. **145**, 210 (1955); **163**, 136 (1958). — Anderson, J. R. A., u. S. Lenzer-Lowy: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 246 (1956); vgl. diese Z. **156**, 141 (1957). — Garnett, J. L., u. L. C. Lock: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 574 (1957); vgl. diese Z. **164**, 260 (1958). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **19**, 256—259 (1958). N. S. W. Univ. Technol. Sidney (Australien). — [3] Ber. dtsch. chem. Ges. **26**, 3033 (1893). G. Denk

Blei. Eine vergleichende Untersuchung über die *gravimetrische Analyse von Blei* im Makro-, Halbmikro- und Mikromaßstab durch Fällen mit *Monophenyl-, Monoallyl- und Mononaphthylhydrazodicarbonthioamid* ist von E. Popper, L. Popa, W. Junie und L. Roman[1] durchgeführt worden. Die gelben, kristallinen Niederschläge, die in der Wärme aus neutraler, alkoholischer Lösung ausfallen, werden durch einen Filtertiegel filtriert und nach dem Waschen mit Alkohol und Äther im Vakuum getrocknet. 5 μg Pb/ml können noch erfaßt werden. Alkali- und Erdalkalimetalle stören nicht. Für die Makrobestimmung eignen sich Monophenyl- und Monoallylhydrazodicarbonthioamid, während für die Mikrobestimmung Mononaphthylhydrazodicarbonthioamid empfehlenswerter ist.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **8**, 269—279 (1957) [Rumänisch]. (Mit franz. Zus.fass.) Fac. Farmac., I. M. F. Cluj (Rumänien). G. Denk

Über die Abtrennung kleiner Mengen Wismut, Blei, Kobalt, Nickel, Phosphor, Eisen und Kupfer mit Ionenaustauschern berichten V. V. Stepin, V. I. Ponosov und E. V. Silaeva[1]. Die Metalle werden in Form ihrer Tetra- bzw. Hexachlorokomplexe in stark salzsaurer Lösung am Anioniten adsorbiert und in schwächer saurer Lösung je nach Beständigkeit desorbiert. Kobalt, Kupfer und Eisen werden mit 4—0,5 n Salzsäure desorbiert, Blei mit 0,02 n Salzsäure, Wismut mit 2 n Schwefelsäure. Zur Abtrennung der Phosphorsäure von Metallen dient Wofatit P, als Anionite werden AN—2F und TM verwendet. 4—6 g Ionenaustauscher werden in eine Austauschersäule von 50 cm Länge und 0,7 cm Durchmesser gefüllt, die Anionite liegen in der Cl^--Form, die Kationite in der H^+-Form vor. — *1. Trennung kleiner Wismutmengen von Cu, Fe, Pb, Mn, Cr und Ni* am Anionit TM. Man läßt die 4—0,5 n salzsaure Lösung durch den Austauscher laufen, wobei nur Bi adsorbiert wird. Nach dem Waschen wird es mit 60—70 ml 2 n Schwefelsäure eluiert und photocolorimetrisch als Jodidkomplex bestimmt. Die Trennung verläuft quantitativ ohne Nebenreaktionen. Sie kann zur Bestimmung von Bi in Elektrolytkupfer, metallischem Zinn, Antimonmetall und Nickellegierungen dienen. — *2. Abtrennung von Blei.* Am Anionit AN-2F oder TM wird Blei aus 0,5 n salzsaurer Lösung adsorbiert und dann mit etwa 50 ml 0,02 n Salzsäure desorbiert. Ni, Cr, Cu, Fe, Co und Mn werden nicht adsorbiert und bleiben im Filtrat. Das Blei wird in der eluierten Lösung mit Dithizon bestimmt. — *3. Trennung des Kobalts von Nickel und anderen Metallen.* Man läßt die 8 n salzsaure Lösung durch den Anionit AN-2F laufen, Nickel läuft durch, während Co, Cu, Fe, Pb, Bi u. a. adsorbiert werden. Man eluiert das Kobalt mit 4 n Salzsäure und bestimmt es im Filtrat mit Nitroso-R-salz photocolorimetrisch. — *4. Trennung des Nickels von anderen Metallen.* Man verfährt wie unter 3., im 1. Filtrat wird das Nickel photocolorimetrisch mit Diacetyldioxim bestimmt. — *5. Abtrennung von Phosphat.* Man läßt die Lösung durch Wofatit P laufen, wobei die Kationen adsorbiert werden und das Phosphat durchläuft. Es wird im Filtrat als Phosphormolybdänblau photocolorimetriert. So können kleine Phosphormengen in Buntmetallegierungen und hochlegierten Stählen bestimmt werden. — *6. Trennung von Kupfer und Eisen von anderen Metallen.* Aus dem Anioniten werden Cu und Fe gemeinsam mit 0,5 n Salzsäure eluiert. Man führt die Metalle in die Pyrophosphatkomplexe über, bringt die Lösung auf p_H 10—11 und läßt durch Wofatit P laufen, wobei Cu adsorbiert wird und Fe durchläuft. Eisen wird im Filtrat mit Hilfe von Sulfosalicylsäure colorimetriert. Kupfer wird mit 1:4 verdünnter Salzsäure ausgewaschen und mit Diäthyldithiocarbaminat colorimetrisch bestimmt. Die Methode kann zur Abtrennung von Eisen und Kupfer von Ni, Cr und anderen störenden Metallen dienen, sowie zur Bestimmung von Kupfer *in Nickel hoher Reinheit, in metallischem Antimon und Zinn.*

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 934—938 (1958) [Russisch]. Inst. f. Schwarzmetalle, Uralsk. H. Nieswand

Kobalt, Nickel. Nach einer Beobachtung von R. E. D. Clark[1] löst sich Nickelsulfid in einer alkalischen Lösung von *Chinoxalin-2,3-dithiol* mit intensiv roter Farbe. Kobaltsulfid löst sich orangegelb, jedoch nicht wie Nickelsulfid bei Gegenwart von überschüssigem Natriumsulfid. Kobaltsulfid kann durch die blaue Lösung nachgewiesen werden, welche mit *Zinkdithiol*[2] entsteht. Eisen(II)-sulfid löst sich in Zinkdithiol mit roter Farbe, jedoch ist die blaue Färbung des Kobaltkomplexes daneben noch zu erkennen. Die intensiv grüne Färbung, die Eisen(II)-sulfid mit Chinoxalin-2,3-dithiol gibt, verschwindet beim Kochen. Durch diese Reaktionen lassen sich Nickel und Kobalt nachweisen, ohne daß der Sulfidniederschlag in Säuren gelöst werden muß. — *Ausführung.* Man bringt eine kleine Menge des mit verd. Salzsäure gewaschenen Sulfidniederschlags in 0,5 ml Pyridin, welches 0,5—5 mg des

Zinkkomplexes von Toluol-3,4-dithiol[2] (Zinkdithiol) enthält und erwärmt. Eine Blaufärbung zeigt Kobalt an. Einen anderen Teil bringt man in 0,5 ml einer 0,1%igen Lösung von Chinoxalin-2,3-dithiol in 1 n Natronlauge, die 1% $Na_2S \cdot 9H_2O$ enthält, und kocht. Bei Gegenwart von Nickel entsteht eine rote Lösung, manchmal ein roter Niederschlag.

[1] Analyst **83**, 431—432 (1958). Techn. College School Art, Cambridge (Großbritannien). — [2] Clark, R. E. D.: Analyst **82**, 177 (1957); vgl. diese Z. **160**, 144 (1958).

G. Denk

III. Analyse organischer Stoffe

1. Elementaranalyse

Mikroelementaranalyse. W. Kirsten[1] beschreibt an Hand von Abbildungen die bekannten *Mikromethoden der Elementaranalyse*. Aus diesen entwickelt er eine neue Methode, die mittels einer durch Zeichnungen und Photos dargestellten Apparatur die *Bestimmung von C, H und N* in einer Probe von etwa 0,1—0,5 und 1 mg gestattet. In einem zugeschmolzenen, mit Sauerstoff gefüllten Quarzröhrchen wird die zu untersuchende Substanz in Gegenwart von Bleidichromat und einem Kupferdrahtnetz im elektrischen Ofen verbrannt. In der erwähnten Apparatur wird im Vakuum das Röhrchen zerbrochen und die ausgetriebenen Gase werden insgesamt volumetrisch und einzeln nach entsprechenden Absorptionen gemessen.

[1] Chim. analytique **40**, 253—263 (1958). Univ. Uppsala (Schweden).

B. Rossmann

Ein Verfahren zur mikrocolorimetrischen Bestimmung von Antimon in organischen Antimonverbindungen beschreibt Y. Kinoshita[1]. Die zu untersuchende Probe kann mit konz. Schwefelsäure und Kaliumsulfat und unter Zusatz von Wasserstoffperoxyd zersetzt werden. Die Lösung wird dann mit Salzsäure auf eine HCl-Konzentration von etwa 6 m gebracht und mit an 6 m Salzsäure gesättigtem Isopropyläther extrahiert. Etwa 98% des vorliegenden Sb^{5+} werden extrahiert. Als Reagens dient eine 0,02%ige Lösung von Rhodamin B in 1 m Salzsäure. Die Absorption wird bei 550 mμ gemessen.

[1] J. pharmac. Soc. Japan **78**, 315—319 (1958) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.) Univ. Nagoya (Japan).

H. Zimmer

Eine Halbmikro-Schwefelbestimmung in organischen Verbindungen durch Verbrennung beschreiben A. Étienne und J. Léger[1]. Die Methode beruht darauf, daß in eine normale C-H-Verbrennungsapparatur ein Silbernetzröllchen eingelegt wird, auf dem sich der in der Substanz enthaltene Schwefel als Silbersulfat niederschlägt, das durch Auswägen bestimmt werden kann. Das Röllchen wird durch einen kleinen Ofen auf 550° C gehalten. Die Verbrennungstemperatur soll 700—750° C betragen, der Sauerstoffstrom 40 ml/min, die Verbrennungsdauer 15 min. Enthalten die Substanzen außerdem Halogen, dann wird das Röllchen nach dem ersten Auswägen mit 100 ml dest. Wasser ausgekocht, wobei das Silbersulfat in Lösung geht, dann bei 150° C getrocknet und erneut gewogen. Die Genauigkeit beträgt $\pm$ 0,1%.

[1] Chim. analytique **40**, 43—46 (1958). École Pratique Hautes Études, Paris (Frankreich).

Ursula Baumann

Zur Chlorbestimmung in siliciumorganischen Verbindungen empfehlen S. V. Sjavcillo, V. T. Šemjatenkova und A. M. Nešumova[1] die Abspaltung des Halogens aus der Si-organischen Verbindung mit metallischem Natrium in flüssigem Ammoniak

und die darauf folgende Hydrolyse mit einem Gemisch (1:1) von Alkohol und Wasser. — *Ausführung.* Man füllt die Einwaage (0,1—0,15 g) in eine dünnwandige Ampulle, die man in einen Erlenmeyer-Kolben bringt, in den man 50—75 ml verflüssigtes Ammoniak und 2—3 Stückchen (0,1—0,2 g) metallisches Natrium eingefüllt hat. Man bricht die Capillarspitze mit einem Glasstab vorsichtig ab und setzt noch etwas Na zu, falls die blaue Farbe verschwinden sollte. Nach 5—10 min zerdrückt man die Ampulle; die blaue Farbe soll noch weitere 10 min andauern. Man verbraucht etwa 1 g Na. Nach dem Verflüchtigen des Ammoniaks und Abtauen des Eises (außen) setzt man 20—25 ml Äthanol (um die Na-Reste zu binden), danach 20—25 ml Wasser hinzu, neutralisiert mit 0,5 n Salpetersäure, setzt noch 2—3 ml davon hinzu und bestimmt das Chlor mercurimetrisch (Indicator Methylenblau + Diphenylcarbazon) oder argentometrisch. Eine Blindprobe ist stets auszuführen. Die Bestimmungsdauer beträgt 1 Std. Vor der Titration mit $Hg(NO_3)_2$ kocht man wasserstoffhaltige siliciumorganische Verbindungen zur Entfernung des Wasserstoffs (der Hg^{2+} reduzieren würde) 1—2 min mit starker Alkalilauge und säuert erst dann mit Salpetersäure an. Die Ergebnisse sind genau und gut reproduzierbar.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 287—289 (1958) [Russisch]. A. v. Wilpert

Submikromethode zur Bestimmung von Jod und Brom in organischen Verbindungen. R. Belcher, R. A. Shah und T. S. West[1] schmelzen zur Zersetzung der organischen Substanzen die Probe im geschlossenen Rohr mit Natrium, oxydieren Jod mit Bromwasser zu Jodat und Brom mit Hypochlorit zu Bromat und bestimmen beides jodometrisch. Die Ergebnisse sind auf ± 0,4% absolut genau. — *Ausführung. Jod.* 50 µg Substanz werden in ein Zersetzungsrohr eingewogen. Dann gibt man ein 7 mm langes Stückchen Natriumdraht (⌀ 1 mm), das man vorher mit Äthanol abwaschen und zwischen Filtrierpapier trocknen soll, dazu und schmelzt das Rohr ab. Im Heizblock wird es 15 min auf 350° C erhitzt. Nach dem Abkühlen und Öffnen gibt man vorsichtig tropfenweise Wasser zur Zersetzung des überschüssigen Natriummetalls hinein, versetzt mit weiteren 0,2 ml Wasser und läßt 2 min stehen. Die unter Nachwaschen filtrierte Lösung wird magnetisch gerührt, mit 1 Tr. Methylrotlösung versetzt und mit 2 n Schwefelsäure neutralisiert. Man gibt 2 Tr. Bromwasser und nach 30 sec 2 Tr. 90%ige Ameisensäure dazu. Nach 7 min wird der Bromdampf abgepumpt, die Lösung mit 1 Tr. 2 n Schwefelsäure und 3 Tr. 10%iger Kaliumjodidlösung versetzt und innerhalb von 30 sec mit Thiosulfatlösung und Thyoden als Indicator titriert. 1 µl 0,01 n $Na_2S_2O_3$-Lösung ≅ 0,2115 µg Jod. — *Bei Anwesenheit von Stickstoffverbindungen* wird das bei der Zersetzung entstehende Cyanid vor der Titration entfernt. Dazu wird die mit 4 n Essigsäure gegen Methylrot gerade sauer gemachte Lösung 2 min in einem Borsilicatglasröhrchen gekocht, indem man einen im Boden eingeschmolzenen Platindraht von außen erhitzt. — *Brom.* Die Substanz wird wie bei Jod eingewogen und zersetzt. Man neutralisiert das Natriumhydroxyd mit 2 n Salzsäure gegen Methylrot, gibt 300 µl 1 n Natriumhypochloritlösung und 350 µl 20%ige Natriumdihydrogenphosphatlösung hinzu (der p_H-Wert beträgt dann etwa 6,2) und erhitzt nach dem Verdünnen auf etwa 3 ml 15 min im Heizblock auf 94 ± 1° C. Dann werden 3 Tr. 50%ige Natriumformiatlösung zugesetzt, und die Lösung wird 5 min sich selbst überlassen. Nach dem Abkühlen fügt man unter Rühren 6 Tr. 12 n Schwefelsäure, 3 Tr. 10%ige Kaliumjodidlösung und einen Mikrotropfen 2,9%ige Ammoniummolybdatlösung als Katalysator dazu und titriert das freigemachte Jod wie oben. Zur besseren Endpunktserkennung benutzt man eine 60 W-Blaulichtlampe.

[1] J. chem. Soc. (London) **1958**, 2998—3002. Univ. Birmingham (England).
Margot Zimmermann

2. Qualitative und quantitative Analyse

Zur Eichung einer Standardskala für die colorimetrische Acetylenbestimmung schlägt M. P. Korš[1] drei stabilisierte Kupferlösungen vor und zwar, 1. das Reagens nach Ilosvay: 2 g Kupfernitrat + 10 ml Wasser + 8 ml 25%iges Ammoniak werden mit 6 g Hydroxylaminhydrochlorid bis zur Entfärbung versetzt und auf 50—60 ml verdünnt. Dann setzt man 10 ml 5%ige Gelatinelösung hinzu und verdünnt auf 100 ml. — 2. Alkoholisches Reagens: 0,5 g Kupfernitrat + 20 ml Wasser + genau 0,5 g NH_3 (durch Zusatz von Ammoniaklösung bereitet) werden mit 2,25 g Hydroxylaminhydrochlorid, 4,5 ml 2%iger Gelatinelösung und 33 ml Äthanol versetzt und mit Wasser auf 100 ml verdünnt. — 3. Das Reagens wird wie das Reagens 2., aber mit 10 ml 5%iger Gelatinelösung bereitet. Alle 3 Lösungen geben stabile klare Kupferacetylenidlösungen, so daß man mit diesen Lösungen auch die künstliche Cr-Co-Skala eichen kann, die 20 g $Co(NO_3)_2$ + 10 g $Cr(NO_3)_3$ in 100 ml enthält. Das Kupferacetylenid ist violett getönt, wenn NH_3 im Unterschuß, ziegelrot, wenn es im Überschuß vorliegt. Außerdem beeinflussen die Verdünnung und die Temperatur die Farbtönung. Man stellt am besten 3 Skalen in 3 Tönungen her, wobei man für die violette Tönung 1—2 Tr. violetter Tinte zusetzt, für die ziegelrote Färbung etwas Co im Überschuß anwendet.

[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 1299—1300 (1957) [Russisch]. Allunions wiss. Forschungs- u. Projektierungs-Inst. für unterird. Kohlenentgasung. A. v. Wilpert

Identifizierung und Trennung der aliphatischen C_1-C_{18}-Alkohole mittels Papierchromatographie. J. Borecký, J. Gasparič und M. Večeřa[1] berichten über die Trennung dieser Alkohole in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoesäureester auf mit Paraffinöl imprägnierten Papieren. Als bewegliche Phasen dienen neue Lösungsmittelsysteme, die aus Formamid und Dimethylformamid als Hauptkomponenten bestehen. Von den eingehend studierten Lösungsmittelsystemen eignen sich: für C_1—C_4-aliph. Alkohole Formamid-Wasser (30 : 70); für C_2—C_6-aliph. Alkohole Formamid-Wasser (50 : 50); für C_3—C_8-aliph. Alkohole Formamid-Wasser (70 : 30); für C_6—C_{12}-aliph. Alkohole Formamid; für C_{10}—C_{18}-aliph. Alkohole Dimethylformamid-Methanol-Wasser (10 : 10 : 1); für C_5—C_7-cycloaliph. Alkohole Formamid-Wasser (70 : 30); für Cholesterin Dimethylformamid-Methanol 10 : 10. Zur Identifizierung eines unbekannten Alkohols gibt das Lösungsmittelsystem Dimethylformamid-Methanol-Wasser (16 : 4 : 4) befriedigende Resultate, das die C_1—C_6-Alkohole mit sich nimmt und die C_{16}—C_{18}-Alkohole am Start beläßt. — Die Verlängerung der Kohlenstoffkette hat eine Abnahme der R_f-Werte zur Folge, die R_M-Werte[2] liegen innerhalb der Fehlerbereiche auf Geraden. Die Trennung der isomeren Alkohole ist nicht möglich; ihre Anwesenheit stört die Trennung der homologen Alkohole zwar nicht, verursacht jedoch die Verlängerung der Flecke und erschwert deren Unterscheidung. Die Anwesenheit von ungesättigten Alkoholen kann eindeutig durch den chromatographischen Vergleich der Probe vor und nach der ausgeführten Halogenierung[3] nachgewiesen werden. Die R_f-Werte der cycloaliphatischen Alkohole entsprechen denjenigen von um 1 C-Atom ärmeren aliphatischen Alkoholen. Die Schwankung der R_f-Werte liegt in Grenzen, welche bei der Chromatographie auf imprägnierten Papieren gewöhnlich beobachtet werden. Die Methode eignet sich zur Trennung und Identifizierung von höheren aliphatischen Alkoholen, welche in technischen Hilfsmitteln zur Textilfaseraufarbeitung vorkommen. — *Ausführung.* Zur Überführung in den Ester löst man 0,1 g von dem zu untersuchenden Alkohol in 1 ml Benzol, gibt die Lösung von 0,5 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 3 ml Benzol und 1 ml Pyridin zu und erwärmt etwa 30 min auf kochendem Wasserbade; die Umsetzung verläuft quantitativ. Nach der Abkühlung schüttelt

man das Reaktionsgemisch zweimal mit je 5 ml 50%iger KOH-Lösung durch und versetzt nach jedem Ausschütteln zur schärferen Trennung der beiden Schichten mit etwa 50 ml Wasser. Die Benzollösung wird zweimal mit je 5 ml Wasser, zweimal mit je 5 ml Salzsäure (1 : 1) und schließlich dreimal mit je 5 ml Wasser ausgeschüttelt, mit Na_2SO_4 entwässert und geklärt. 10—20 μg dieser Lösung (mindestens 1 μg) trägt man auf die 26—40 cm langen Streifen (Whatman-Papier Nr. 3) auf, die vorher mit 10%iger Lösung von Paraffinöl in Cyclohexan imprägniert worden sind. Das mobile Lösungsmittelsystem muß vor der Anwendung mit der stationären Phase durchgeschüttelt werden. Die absteigend durchgeführte Chromatographie dauert je nach dem Lösungsmittelsystem 3—15 Std. Das Chromatogramm wird in einem gut gelüfteten Schrank bei 120—150° C getrocknet. Die 3,5-Dinitrobenzoate erscheinen im filtrierten UV-Licht als dunkle Flecken. Sie können auch sichtbar gemacht werden, indem man das Chromatogramm nach der Trocknung zunächst mit Zinn(II)-chloridlösung (0,7 g $SnCl_2$ + 15 ml konz. Salzsäure in 120 ml Lösung) und nach 30 min mit p-Dimethylaminobenzaldehydlösung (1 g Agens in 95 ml Äthanol und 5 ml konz. Salzsäure gelöst) besprüht. Die Ester der 3,5-Dinitrobenzoesäure erscheinen als intensiv gelbe Flecken. Diese Entwicklungsweise ist etwas empfindlicher als die UV-Belichtung.

[1] Chem. Listy **52**, 1283—1288 (1958) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. organ. Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR). — [2] Bate-Smith, E. C., u. R. G. Westall: Biochim. biophysica Acta **4**, 427 (1950). — [3] Kobrle, V., u. R. Zahradník: Chem. Listy 48, 1703 (1954); vgl. diese Z. **149**, 313 (1956). M. Hřivnáč

Zum Nachweis schwefelhaltiger organischer Verbindungen auf Papierchromatogrammen empfiehlt L. Jirousek[1] eine Lösung von metallischem Natrium in flüssigem Ammoniak als Reagens. Zahlreiche schwefelhaltige Verbindungen, außerdem auch elementarer Schwefel, werden durch das Reagens in Sulfide (Thiole) übergeführt, die mit Nitroprussidnatrium sichtbar gemacht werden. Verf. hat das Verfahren an 100 Verbindungen verschiedener Stoffklassen überprüft und mit bekannten Nachweismethoden (Reagens nach Grote, ammoniakalischer Silberlösung, Ninhydrin und Jod-Azid) verglichen. Ein großer Vorteil des neuen Verfahrens ist seine Spezifität. Positive Reaktion beweist eindeutig die Anwesenheit von Schwefel. Ein Nachteil ist die geringe Beständigkeit der mit Nitroprussidnatrium erhaltenen Farbflecken, die umso rascher verblassen je kleiner die Konzentration an dem nachzuweisenden Stoff ist. Außerdem spielt auch die Konstitution des Stoffes eine Rolle. So geben einige Toluensulfonyl-(Tosyl-)derivate und Sulfonamide sehr schwach gefärbte Flecken im Gegensatz zu den sehr intensiv reagierenden Stoffen Dimercaptopropanol, S-Benzylderivate, elementarer Schwefel usw. Ein Vorteil des Reagenses ist die auftretende stark alkalische Reaktion, die gewisse Umsetzungen erleichtert. Durch das Reagens werden sehr viele Verbindungen des zweiwertigen Schwefels erfaßt. Es reagieren aber auch gewisse Verbindungen mit 4- oder 6-wertigem Schwefel. Die Empfindlichkeit ist ausreichend (bei Sulfhydrylverbindungen, Sulfiden und Polysulfiden viel größer als die der anderen Nachweisreaktionen). — *Ausführung.* Man zieht die Chromatogramme durch die blaue 3%ige Lösung von Natrium in flüssigem Ammoniak und zwar so, daß eine Papierseite möglichst nicht eintaucht. Die blaue Reagenslösung wird bei wiederholter Benutzung allmählich entfärbt. Die farblos gewordene Lösung ist nicht mehr brauchbar. Die Chromatogramme werden an der Luft getrocknet und dann in 2%ige wäßrige Nitroprussidnatriumlösung getaucht oder damit besprüht.

[1] Chem. Listy **52**, 1553—1559 (1958) [Tschechisch]. Endokrinolog. Forsch.-Inst. Prag (ČSR). A. Kurtenacker

Zur Trennung und Identifizierung von organischen Sulfiden eignet sich nach J. Petránek und M. Večeřa[1] die Papierchromatographie, wenn man die Sulfide zunächst mit p-Nitrobenzolsulfochloramid in die p-Nitrobenzolsulfonylsulfylimine umwandelt. Die Methode gibt eine gute Trennung von homologen Reihen der Dialkyl- und Benzylalkylsulfide und eignet sich auch für Alkylaryl- und Diarylsulfide. Als stationäre Phase bewährt sich Formamid wegen seines guten Lösungsvermögens für die Sulfylimine. Optimale Trennungen von C_2—C_7-Dialkylsulfiden werden mit Benzol, von C_5—C_{10}-Dialkylsulfiden mit Benzol-Cyclohexan (1 : 1) und von Benzylalkylsulfiden mit Benzol-Cyclohexan (3 : 2) als mobilen Phasen erreicht. Die R_M-Werte[2] der homologen Reihen liegen für den Bereich der R_f-Werte von 0,1—0,75 bei allen benutzten Lösungsmittelsystemen auf Geraden. — *Arbeitsvorschrift.* Zur Herstellung der p-Nitrobenzolsulfonylimine versetzt man die Lösung von 0,5 mMol Sulfid in 2 ml Methanol mit der Lösung von 200 mg des Natriumsalzes von p-Nitrobenzolsulfochloramid in 5 ml Methanol und sorgt durch Zugabe von 1 Tropfen 1%iger methanolischer Ameisensäurelösung dafür, daß etwa vorhandene alkalische Reaktion beseitigt wird. Die ursprünglich gelbe Lösung wird während der Umsetzung farblos. Nach 15 min verdünnt man das Reaktionsgemisch mit 20 ml Wasser, gibt 10 ml 2 n Natronlauge zu und schüttelt zweimal mit je 5 ml Chloroform aus. 1—10 μg der Chloroformlösung bringt man 7 cm vom oberen Rand auf das chromatographische Papier (Whatman-Papier Nr. 4, mit 10%iger Lösung von Formamid in Äthanol imprägniert[3]) und chromatographiert absteigend bei 20—21° C. Nach 70—90 min (35—40 cm Laufstrecke) unterbricht man die Chromatographie, läßt das Lösungsmittel abfließen, besprüht mit frisch bereiteter Zinn(II)-chloridlösung (0,7 g $SnCl_2$ in 100 ml 15%iger Salzsäure) und entwickelt nach 30 min durch Besprühen mit einer 1%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in Äthanol, die 5% Salzsäure enthält. Die Sulfylimine erscheinen als gelbe, scharfe runde Flecken. 0,15 μg Sulfylimin lassen sich auf diese Art noch identifizieren. Zur Identifizierung unbekannter Stoffe läßt man Vergleichssubstanzen mitlaufen. Die Arbeitsbedingungen müssen genau eingehalten werden, um reproduzierbare Resultate zu erhalten. Isomere Sulfide werden praktisch nicht getrennt. — *Herstellung von p-Nitrobenzolsulfochloramid.* Man versetzt die auf 10° C abgekühlte Lösung von 5 g p-Nitrobenzolsulfonamid in 10 ml 10%iger Natronlauge unter Kühlung mit 17 ml gekühlter NaOCl-Lösung (1,95 g NaOCl), saugt vom ausgeschiedenen Reaktionsprodukt ab und kristallisiert es aus wenig Wasser um. Die gelblichen Kristalle des Natriumsalzes enthalten 23,5—25,3% aktives Chlor.

[1] Chem. Listy **52**, 1279—1282 (1958) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. organische Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR). — [2] Bate-Smith, E. C., u. R. G. Westall: Biochim. Biophys. Acta **4**, 427 (1950). — [3] Gasparič, J., u. M. Večeřa: Chem. Listy **51**, 287 (1957); vgl. diese Z. **158**, 227 (1957). M. Hřivnáč

Zur Bestimmung von Alkoxylgruppen in siliciumorganischen Verbindungen (Tetraäthoxysilan) erhitzen G. D. Nessonova und E. K. Pogosjanc[1] die Probe statt mit Jodwasserstoffsäure mit dem von W. Kirsten und S. Ehrlich-Rogozinsky[2] empfohlenen „Jodierungsgemisch", das aus 2 g rotem Phosphor, 60 g Phenol, 100 g Jodwasserstoffsäure (1,7) und 5 ml Propionsäure besteht und das längere Zeit ohne Verlust an Wirkungswert aufbewahrt werden kann (genaue Herstellungsvorschrift vgl. [2]). — *Analysengang:* Man bringt etwa 15—20 mg der zu analysierenden Substanz in einer feinen Glasampulle in den Reaktionskolben einer Zeiselapparatur und gibt 15—17 ml des Jodierungsgemisches dazu. In das Waschgefäß der Apparatur bringt man 10 ml eines Gemisches aus gleichen Teilen 10%iger Cadmiumsulfat- und Natriumthiosulfatlösung. In die Absorptionsgefäße kommt eine 10%ige Natriumacetatlösung in Eisessig, die 6—7 Tr. Brom enthält. Die hintere Öffnung

der Gefäße wird mit einem mit Ameisensäure getränkten Wattebausch verschlossen. Dann zerdrückt man die Glasampulle und erhitzt die Lösung, wobei man CO_2 durch die Apparatur strömen läßt, bis bei 125° C kein Äthyljodid mehr übergeht. Den Inhalt der Absorptionsgefäße spült man dann in einen Erlenmeyer-Kolben, versetzt mit 1—1,5 g festem Natriumacetat, verdünnt mit 100—150 ml Wasser und beseitigt mit Ameisensäure den Bromüberschuß. Man gibt 1—1,5 g Kaliumjodid, sowie 5—10 ml 2 n Salzsäure dazu und titriert das frei gewordene Jod mit Thiosulfatlösung.

[1] Zavodskaja Laborat. **24**, 953 (1958) [Russisch]. Textilinst. Moskau. — [2] Mikrochim. Acta **1955**, 786; vgl. diese Z. **152**, 302 (1956). H. Nieswand

Den Siliciumgehalt von Tetraäthoxysilan bestimmen L. Kálmán und A. Vágó[1] maßanalytisch, indem sie die alkoholische Lösung mit Flußsäure hydrolysieren, mittels Kalilauge Kaliumsilicofluorid fällen und nach Verdünnen mit heißem Wasser die freigesetzte Flußsäure messen. — *Ausführung.* In einen trockenen 50 ml-Meßkolben werden 2—2,5 ml der Lösung gewogen und mit Äthanol aufgefüllt. 10 ml der verdünnten Lösung werden in einer Platinschale oder in einem Kunststoffbecher mit 1—1,5 ml kieselfluorsäurefreier Flußsäure versetzt, nach einigen Minuten fügt man Phenolphthalein und so viel 10%ige Kalilauge zu, bis die Lösung eben rot wird. Nach Zugabe von ebensoviel Äthanol als Kalilauge verwendet worden ist, wird die Lösung mit 0,2 n Salz- oder Schwefelsäure neutralisiert, in einen Literkolben übergeführt, mit heißem Wasser auf 6—700 ml verdünnt und nach dem Erkalten mit 0,2 n Natronlauge auf beständige Rosafarbe titriert. Die verbrauchte Lauge entspricht der aus dem Kaliumsilicofluorid gebildeten Flußsäure.

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **64**, 123—125 (1958) [Ungarisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Forsch. Inst. für schwere chemische Industrie, Veszprém (Ungarn). J. Plank

Gas-Flüssigkeits-Verteilungschromatographie von Fluorkohlenstoffverbindungen. T. M. Reed III[1] untersucht verschiedene Substanzen auf ihre Eignung als stationäre Phasen in der Gaschromatographie von Fluorkohlenstoffverbindungen. Ergebnisse werden für *Di-(2-äthylhexyl)-sebacat, n-Hexadecan, den Äthylester der Kel-F-Säure 8114 [$Cl(CF_2CFCl)_3CF_2COOS_2H_5$], Kel-F Nr. 90-Fett, Perfluorocerosin* und *Perfluorotributylamin* mitgeteilt. Fluorokohlenstoff- und Chlorfluorkohlenstoffverbindungen geben bei der Trennung von Fluorkohlenstoffsubstanzen bessere Trenneffekte als Kohlenwasserstoffe. Die Messungen werden im Bereich von 30—125°C mit Stickstoff als Trägergas durchgeführt. Einzelheiten über die Zusammensetzung der Säulen werden mitgeteilt. Zur Prüfung des Trenneffektes werden Perfluoropentan, C_5F_{12} (hergestellt durch Elektrolyse von Pyridin in Fluorwasserstoffsäure), Perfluorheptan, C_7F_{16} (gewonnen aus „Fluorocarbon FC 101", einer Fluorkohlenstoffmischung des Siedebereiches 67—110°C) und Perfluorononan, C_9F_{20} (fraktioniert aus einer Handelsmischung mit 126—127°C Siedebereich) herangezogen. Über den Einfluß der Strömungsgeschwindigkeit, über die Retentionsvolumina, die relativen Verteilungskoeffizienten (bezogen auf Perfluorheptan) und über die Aktivitätskoeffizienten der Testsubstanzen in den einzelnen stationären Phasen wird ausführlich berichtet. Zur Untersuchung von Gemischen mit einem unter 150°C liegenden Siedebereich liefert die Verwendung des Äthylesters der Kel-F-Säure 8114 einen guten Trenneffekt. Mit Hilfe dieser stationären Phase wird bei Produkten der Reaktion von Trifluormethylschwefelpentafluorid (CF_3SF_5) mit Perfluorpropylen (C_3F_6) eine gute Auflösung erreicht.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 221—228 (1958). Univ. Gainesville, Fla. (USA).
D. Jentzsch

Identifizierung und Bestimmung von Aldehyden. In Fortführung früherer Arbeiten[1] haben S. Veibel, I. G. Krogh Andersen und B. J. Nielsen[2] die Methode von A. v. Wazek und K. Kratzl[3] zum Nachweis von Aldehyden überprüft. Sie kommen zu dem Schluß, daß die Anwendung dieser Methode nur eng begrenzt ist und daß sie daher nicht empfehlenswert erscheint. Die Methode beruht auf der Schmelzpunktbestimmung des Niederschlages, der sich aus der Reaktion zwischen Aldehyden, α-hydroxyalkansulfonsaurem Natrium und Benzylthioharnstoff bildet. Alle in Betracht kommenden Schmelzpunkte fallen in den engen Bereich von 112—119°C. Verff. stellen aber fest, daß einige Salze des Benzylthioharnstoffes mit α-Hydroxysulfonsäuren durch Perchlorsäure in Eisessig titrierbar sind und daß man dies vielleicht zu Identifizierungen heranziehen kann. Nur Aldehydbisulfitverbindungen mit einer Dissoziationskonstante über 10^{-4} erweisen sich als titrierbar, wogegen solche mit einer Dissoziationskonstante unter 10^{-4} sich nicht titrieren lassen. Die Bisulfitverbindungen der Pyridylaldehyde sind wasserlöslich und bilden keine Salze mit Benzylthioharnstoff.

[1] Veibel, S., u. I. G. Krogh Anderson: Anal. chim. Acta **14**, 320 (1956); **15**, 15 (1956); vgl. diese Z. **154**, 296 (1957); **155**, 435 (1957). — [2] Suomen Kemistilehti, Ser. A, **31**, 10—13 (1958). Techn. Univ. von Dänemark. — [3] Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 1209 (1943). B. Rossmann

Über die Papierchromatographie der Fettsäureamide berichten H. P. Kaufmann und K.-J. Skiba[1]. Ihre Trennung kann auf mit Undecan imprägniertem Filterpapier (Schl. & Sch. 2043 b Mgl) unter Verwendung von 96%iger Essigsäure-Wasser (70:30) als beweglicher Phase nach einer bereits früher von H. P. Kaufmann und W. H. Nitsch[2] angegebenen Arbeitsvorschrift ausgeführt werden. Während der gesamten Versuchsdauer soll die Temperatur (20 ± 0,5° C) in der von A. Seher[3] beschriebenen Weise konstant gehalten und kontrolliert werden. Um gleichbleibende R_f-Werte zu erzielen, muß der Dampfraum im Chromatographiergefäß durch einen Blindstreifen gesättigt werden[3]. Zum Nachweis der getrennten Fettsäureamide werden deren Quecksilberverbindungen herangezogen. Man legt die entwickelten Chromatogramme, die 2 Std an der Luft bei Raumtemperatur getrocknet worden sind, 5 min in eine 3%ige Quecksilberacetatlösung, die mit 1%iger Essigsäure angesäuert ist. Anschließend werden die Papiere zur Entfernung des überschüssigen Quecksilberacetats 2 Std gründlich mit Wasser gewaschen, danach an der Luft getrocknet und mit einer 1%igen alkoholischen Diphenylcarbazonlösung besprüht. Man erhält violettblaue Flecke auf schwach blauviolettem Hintergrund, der jedoch nach einigen Stunden verblaßt. Die Quecksilberacetat-Addukte können auch in der bereits früher beschriebenen Weise mit Schwefelwasserstoff in haltbares schwarzes Quecksilbersulfid übergeführt werden. Nachstehend sind die R_f-Werte der untersuchten Fettsäureamide genannt: *Caprinsäureamid 0,80; Laurinsäureamid 0,66; Myristinsäureamid 0,33; Palmitinsäureamid 0,29; Stearinsäureamid 0,15; Ölsäureamid 0,31; Elaidinsäureamid 0,24; Linolsäureamid 0,44* und *Linolensäureamid 0,62*.

[1] Fette u. Seifen **60**, 261—263 (1958). Inst. Fettforsch., Münster/Westfalen. — [2] Fette u. Seifen **56**, 154 (1954); **57**, 473 (1955); **58**, 234 (1956); vgl. diese Z. **146**, 115 (1955); **150**, 319 (1956); **157**, 450 (1957). — [3] Fette u. Seifen **58**, 401 (1956); vgl. diese Z. **155**, 298 (1957). K. Machner

Einige Bemerkungen zur Bestimmung des Betains als Reineckat macht A. Simenauer[1]. Während das Reineckat des Cholins sich bereits in neutraler oder schwach alkalischer Lösung bildet, wird Betain erst in saurer Lösung bei etwa p_H 1

gefällt. Da dabei auch andere Substanzen erfaßt werden, ist eine Reinigung erforderlich, bei der aus dem Reineckat die gebundene Substanz freigesetzt und mit $KMnO_4$ in saurer Lösung behandelt wird. Dabei bleibt das Betain unverändert und kann anschließend wieder als Reinacket gefällt werden. Die gravimetrische Bestimmung als Reineckat spielt keine große Rolle. Am meisten wird die *colorimetrische Bestimmung* des Reineckats in wäßrig-acetonischer Lösung angewendet. Die Bestimmung als Chromat nach Zerstörung des Reineckats soll keine Vorteile bieten, da sie zeitraubend ist, die größere Empfindlichkeit wegen der nicht zu vernachlässigenden Löslichkeit des Reineckat aber nicht zum Tragen kommt. Eine *volumetrische Bestimmung* ist möglich über die saure Natur des Reineckats oder über das komplexe Anion. Für das erstgenannte Verfahren wird die Methode von H. G. Walker jr. und R. Erlandsen[2] empfohlen, bei dem die nach Zugabe von $AgNO_3$ gebildete Säure mit 0,02 n Lauge titriert wird. Bei einem andern Verfahren von B. T. Cromwell und S. D. Rennie[3] wird mit Diphenylguanidinlösung titriert. Unter den Titrationsmethoden die am Reineckatanion angreifen, wird das bromometrische Verfahren von E. Kahane und R. Coupechoux[4] genannt, das sehr empfindlich sein soll, dem aber ein anderes Verfahren, weil rascher durchführbar, vorgezogen wird. Dabei wird das im Anion gebundene Ammoniak nach Alkalisieren im Stickstoffbestimmungsapparat nach Parnas-Wagner übergetrieben. Man kann für diese Bestimmung auch das Silberreineckat verwenden, indem man nach Bischoff, Grab und Kapfhammer[5] mit Silbersulfat und Bariumchlorid behandelt. Dieses Vorgehen bietet den Vorteil, daß man die in Lösung bleibenden Substanzen noch für die papierchromatographische Identifizierung benützen kann. Von einer Bestimmung des Betainstickstoffs in einer solchen Lösung wird wegen der zeitraubenden Kjeldahlisierung von Betain abgeraten. Im zweiten Teil der Arbeit finden sich Angaben über die Zusammensetzung des Betainreineckats und seine Eigenschaften.

[1] Bull. Soc. chim. France **1958**, 294—297. Centre Nat. Rech. Sci., Paris (Frankreich). — [2] Analyt. Chemistry **23**, 1309 (1951); vgl. diese Z. **137**, 310 (1952/53). — [3] Biochemic. J. **55**, 189 (1953). — [4] Bull. Soc. chim. France **3**, 1588 (1936); vgl. diese Z. **111**, 435 (1937/38). — [5] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **207**, 63 (1932).

L. Acker

Die Analyse von Mischungen aus Glucosamin und Galaktosamin mittels Bäckerhefe beschreiben B. M. Pogell und D. F. Koenig[1]. — *Arbeitsweise.* Die in den Gewebehydrolysaten vorliegenden Hexosamine werden zuerst an Dowex 50 (H^+) zur Abtrennung von Zuckern adsorbiert und dann eluiert. Der Gesamthexosamingehalt wird in einem aliquoten Teil nach dem Verfahren von Blix, Elson und Morgan[2] bestimmt. Ein anderer aliquoter Teil, der etwa 1 μ Mol Glucosamin enthält, wird in einem 25 ml-Erlenmeyer-Kolben zu 1,5 ml Wasser gegeben. 2 ml Hefesuspension (600 mg Feuchtgewicht) werden zu jedem Kolben zugefügt. [Zur Bereitung der Hefesuspension werden 15 g frische Bäckerhefe viermal mit dest. Wasser gewaschen und jeweils bei 4° C zentrifugiert. Die Hefe wird suspendiert in 25 ml 0,1 n Natriumphosphatpufferlösung (p_H 7,5) und mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt]. Die verschlossenen Flaschen werden 1 Std bei 30° C unter Schütteln bebrütet. Nachdem man die Hefe durch Zentrifugieren bei 4° C, das zur vollständigen Entfernung der Hefe am besten wiederholt wird, entfernt hat, wird jeweils 1 ml auf Hexosamin untersucht. Bei jeder Bestimmung werden zwei Galaktosaminstandards (0,9 μMol) in der gleichen Weise behandelt. Weiterhin werden eine Hefekontrolle und eine Kontrollprobe mit Glucosamin (1 μMol) + Hefe mitlaufen gelassen. Der Galaktosamingehalt wird unter Benutzung des inneren Galaktosaminstandards aus der Hexosaminkonzentration nach der Vergärung berechnet. Die Berechnung des Glucosamingehaltes erfolgt unter der Annahme, das die im Blix-Test aus Glucosamin

und Galaktosamin erhaltenen Extinktionen gleich sind, aus der Differenz der Hexosamingehalte vor und nach der Vergärung.

[1] Nature (London) **182**, 127—128 (1958). John Hopkins Univ. a. Hosp., Baltimore, Md. (USA). — [2] Blix, G.: Acta chem. scand. (Kopenhagen). **2**, 467 (1948). — Boas, N. F.: J. biol. Chemistry **204**, 553 (1953). — Elson, L. A., u. W. T. J. Morgan: Biochemic. J. **27**, 1824 (1933); vgl. diese Z. **103**, 376 (1954). L. Acker

Zur Trennung von Disacchariden verwenden N. Hoban und J. W. White jr.[1] eine Säule aus mit Stearinsäure behandelter Kohle und eluieren mit Wasser-Alkohol-Mischungen steigender Alkoholkonzentration (0—7%). Dabei werden etwa 140 Fraktionen aufgefangen. In den einzelnen Fraktionen wird der Zuckergehalt mit Hilfe des Anthronreagenses bestimmt[2]. Damit lassen sich auch die Disaccharidpaare voneinander trennen, die papierchromatographisch nicht unterschieden werden können, wie *Turanose-Saccharose*, *Isomaltose-Gentobiose*, *Maltulose-Nigerose* und *Melibiose-Lactose*.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1294—1296 (1958). East. Reg. Res. Lab., Philadelphia, Pa. (USA). — [2] Hamilton, R. H.: Analyt. Chemistry **25**, 399 (1953); vgl. diese Z. **142**, 289 (1954). L. Acker

Fraktionierung einiger aromatischer Kohlenwasserstoffe mit Molekularsieben. B. J. Mair und M. Shamaiengar[1] beschreiben eine Methode zur Trennung aromatischer Kohlenwasserstoffe C_{18}—C_{25} mit den Linde-Molekularsieben 10 x (Porenvolumen 0,36 ml/g) und 13 x (Porenvolumen 0,31 ml/g). Die Proben werden dabei von unten nach oben in eine 9,70 m lange Säule (innerer ∅ 1,6 cm) gedrückt, die nicht adsorbierten Anteile mit Isooctan herausgespült und die zunächst absorbierten Teile mit Wasserdampf in 20 Std bei 175° C und schließlich 2 Std bei 220° C desorbiert. Letzteres gelingt auch bei 75° C mit Äthanol. Der Aufbau der Apparatur und die Arbeitsweise sind im einzelnen beschrieben. Testversuche mit *n-Decylbenzol* (a), *1,3,5-Triäthylbenzol* (b), *6-Decyl-(1,2,3,4-tetrahydronaphthalin)* (c), *2-Butyl-1-hexylindan* (d), *2-Butyl-5-hexylindan* (e) und *1,2,3,4,5,6,7,8,13,14,15,16-Dodecahydrochrysen* (f) zeigen, daß alle Verbindungen am Molekularsieb 13 x 100%ig adsorbiert werden. Unterschiede ergeben sich nur am anderen Siebtyp 10 x, wo a) zu 100, b) zu 6, c) zu 50, e) zu 60 und f) zu 5% adsorbiert werden. — 3 Fraktionen, die ein-, zwei- bzw. dreikernige Aromaten enthalten, werden aus schwerem Gasöl und leichten Schmieröldestillaten ausgewählt und an beiden Sieben getrennt. Es werden dabei drei Fraktionen erhalten: 1. nicht an Sieb 13 x adsorbiert, 2. an Sieb 13 x, aber nicht an Sieb 10 x adsorbiert, 3. an Sieb 10 x adsorbiert. Die einkernigen Aromaten verteilen sich auf die 3 Fraktionen mit 30, 58 und 12 Vol-%, die zweikernigen mit 60, 33 und 7 Vol-% und schließlich die dreikernigen mit 58, 26 und 16 Vol-%. Der Brechungsexponent, die Dichte, die Refraktion und die Viscosität werden für die einzelnen Fraktionen mitgeteilt.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 276—279 (1958). Chemical and Petroleum Research Laboratory, Carnegie Institute of Technology, Pittsburgh, Pa. (USA). D. Jentzsch

Über die adsorptionschromatographische Trennung isomerer Polyphenyle haben M. Hellmann, R. L. Alexander jr. und Ch. F. Coyle[1] Untersuchungen ausgeführt. Als Adsorptionsmittel werden Aluminiumoxyd (80—200 mesh, aktiviert durch Erhitzen auf 200° C), Fullererde (100—200 mesh, aktiviert durch Erhitzen auf 160° C), Silicagel (28—200 mesh), Aktivkohle (8—30 mesh), Kokosnußkohle und Knochenkohle (sämtliche Kohlen vor Gebrauch einige Stunden auf 110° C erhitzt) verwendet. Von den Polyphenylen sind *Diphenyl*, *o-, m- und p-Terphenyl*, *o-, m- und m, p-Quaterphenyl* sowie *m-Quinquephenyl* und *m-Sexiphenyl* ausgewählt worden. — *Versuchsbedingungen.* Die Gewichtsverhältnisse zwischen Adsorptionsmittel und zu

trennender Mischung lagen im Bereich von 5:1 bis 50:1. Bei den Kohlen schwankte das Verhältnis von 5:1 bis 15:1. Die Säulendimensionen waren so gewählt, daß das Verhältnis von Höhe zu Durchmesser zwischen 5:1 und 10:1 lag. Zur Elution dienten Isooctan, Chloroform, Cyclohexan oder Äther. Das Fraktionsvolumen betrug im allgemeinen 10 ml, in einzelnen Fällen 5 ml. Vor der quantitativen spektroskopischen Bestimmung im UV mit einem Beckman-Spektrophotometer, Modell DU, wurden die Fraktionen mit den entsprechenden Lösungsmitteln verdünnt. — Die Trennung der einzelnen Isomeren wird sowohl durch die Struktur als auch das Molgewicht beeinflußt. Es wird deshalb empfohlen, vor der Auftrennung von Mischungen in die einzelnen Isomeren eine Trennung in Fraktionen gleichen Molgewichtes vorzunehmen. Für o- und m-Terphenyl wird mit Aktivkohle die beste Trennung erreicht, wobei die Rückgewinnung der Komponenten nur mit 70—80% möglich ist. Bei den anderen Adsorptionsmitteln macht die Wiedergewinnung geringere Schwierigkeiten, allerdings ist der Trenneffekt unbefriedigend. o- und m-Quaterphenyl lassen sich unter ähnlichen Bedingungen trennen, mit Aluminiumoxyd ist die Auftrennung schärfer als bei den Terphenylen. Bei Mischungen, die Terphenyle und Quaterphenyle enthalten, werden die p-Isomeren stark adsorbiert, so daß sie leicht abgetrennt werden können (als Elutionsmittel dient zunächst Cyclohexan, dann Chloroform). Eine Mischung aus Komponenten gleicher Struktur, aber unterschiedlichen Molgewichtes läßt sich mit Aluminiumoxyd (rein und mit 1,5% Wasser) oder mit Kieselgel (Wassergehalt 8%) unter Verwendung von Isooctan mit steigendem Ätherzusatz (0, 1, 2, 4 und 50%) auftrennen. Aus den angegebenen spezifischen Retentionsvolumina ist zu ersehen, daß die Adsorption an Aluminiumoxyd stärker als an Fullererde ist und daß Isooctan langsamer eluiert als Cyclohexan. Bei gleichem Molgewicht nimmt die Adsorption vom o- über das m- zum p-Isomeren zu. Mit steigendem Molgewicht nimmt ebenfalls die Adsorption zu. Die spezifischen Retentionsvolumina von m-Terphenyl und o-Quaterophenyl sind in 3 von 4 untersuchten Systemen gleich, so daß prinzipiell die Trennung dieser Verbindungen Schwierigkeiten bereiten wird.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 1206—1210 (1958). Nat. Bureau Standards, Washington, D.C. (USA). D. Jentzsch

Zum Nachweis von Lipoiden, einschließlich Steroiden, ungesättigten Fettsäuren und terpenähnlichen Kohlenwasserstoffen auf Papierchromatogrammen und Pherogrammen empfehlen M. W. Whitehouse, A. E. Bresler und E. Staple[1] die Reaktion mit Jod. — *Ausführung.* Die sorgfältig getrockneten Papiere werden in einem gut verschlossenen Gefäß längere Zeit (12 - 48 Std) mit Joddampf behandelt (die Papiere können auch in eine 0,2%ige Lösung von Jod in Petroläther bzw. Diäthyläther getaucht oder damit besprüht werden; man läßt dann das überschüssige Jod im Luftstrom verdampfen). Bei vielen Lipoiden ist oft schon innerhalb weniger Minuten eine charakteristische Farbreaktion (braun oder gelb) zu beobachten. In einigen Fällen muß jedoch im UV-Licht ausgewertet werden. Die Empfindlichkeit der Jodreaktion zahlreicher Lipoide kann einer Tabelle der Originalarbeit entnommen werden.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 385—386 (1958). Univ., Philadelphia, Pa. (USA). K. Machner

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Die quantitative Bestimmung des Eusintomycins, des Stearinsäureesters des racemischen 1-(p-Nitrophenyl)-2-dichloracetamidopropandiols-1,3 in Arzneimitteln führen N. N. Dychanov und R. I. Švidko[1] auf Grund des Chlorgehaltes durch. Im

wäßrigen Auszug einer Probe wird das vorhandene Chlorion titrimetrisch nach VOLHARD bestimmt. In einer zweiten Probe reduziert man das Eusintomycin mit der 3fachen Menge Devardascher Legierung in 30 min in alkoholischer Alkalilauge. Hierbei wird das organisch gebundene Chlor in das entsprechende Alkalichlorid übergeführt und zusammen mit dem bereits nach VOLHARD bestimmten Chlor in gleicher Weise bestimmt, worauf sich durch Subtraktion das organisch gebundene Chlor ergibt. Störungen durch die abgespaltene Stearinsäure werden bei der Titration durch Zugabe von $CHCl_3$ vermindert. Störende Färbungen werden durch H_2O_2 beseitigt, dessen Überschuß durch Eisen(II)-sulfat zersetzt wird. 1 ml 0,1 n Silberlösung entspricht 0,029481 g Eusintomycin.

[1] Ž. anal. Chim. **13**, 148—149 (1958) [Russisch]. (Mit engl. Zus. fass.). Chem.-pharmaz. Fabrik „Akrichin", Moskau. E. FÖRSTER

Zur Bestimmung von 2-p-Chlorphenyl-3-methyl-2,3-butandiol (I) *(Phenaglicodol, Ultran, Acalo)* empfiehlt O. CERRI[1] die Methode von W. D. POHLE, V. C. MEHLENBACHER und J. H. COOK[2] durch Ermittlung der OH-Gruppen an benachbarten C-Atomen. — *Ausführung.* In einem Glasschliffkolben wägt man etwa 250 mg I ein und fügt 25 ml der Reaktionslösung (3 g Perjodsäure in 100 ml Wasser gelöst und zu 500 ml mit Eisessig aufgefüllt) zu. Man läßt 2 Std im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen, versetzt dann mit 4—5 g Kaliumjodid und titriert mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung und Stärke als Indicator. In gleicher Weise verfährt man mit einer Blindprobe. $I\% = 21445\ A \cdot n/2000\ P$, worin A die Differenz des Thiosulfatverbrauchs für Blind- und Hauptprobe, n die Normalität der Maßflüssigkeit und P die Einwaage bedeuten. Das Chlor bestimmt man in der Wurzschmitt-Bombe. Theoretische Werte erhält man nur mit exakt zubereiteter Mischung.

[1] Boll. chim. farmac. **97**, 261—262 (1958). Ist. Sieroterapico, Milano (Italien). — [2] Oil and Soap **22**, 115 (1945). H. FREYTAG

Das papierchromatographische Verhalten von 1-Äthinyl-cyclohexyl-carbaminat (Valamin, Va) und 1-Äthinyl-cyclohexyl-allophanat (Dolcentol, Do) beschreiben F. R. PREUSS und R. KOPP[1]. — *Arbeitsweise.* Man tränkt in der Faserrichtung geschnittenes Papier von Schl. & Sch. 2043b oder Macherey und Nagel Nr. 261 mit einer 30 vol.-%igen Lösung von 1,2-Propylenglykol in Äthanol, trocknet nach Abtupfen des Überschusses an der Luft und entfernt die Äthanolreste durch Erhitzen der Streifen auf 120—130° C im Trockenschrank. Dann trägt man auf dem 4 cm vom unteren Rande entfernten Startpunkt je etwa 10 μg Va und Do auf und entwickelt aufsteigend über eine Laufstrecke von etwa 17 cm mit einer Mischung von 38,1 g Dioxan mit frisch destilliertem Ligroin „Riedel-de Haën" (Siedebereich 90 -100° C) zu 100 ml ergänzt, wozu etwa 2 Std Zeit benötigt werden. Eine Äquilibrierung des Papieres ist nicht notwendig. Nach dem Trocknen der Chromatogramme an der Luft besprüht man sie mit 1%iger alkoholischer Silbernitratlösung, läßt den Alkohol abdunsten und wäscht in destilliertem Wasser sorgfältig das überschüssige Silbernitrat aus, wozu 8—10maliges Waschen mit immer erneuertem Wasser notwendig ist. Dann erhitzt man die Papiere 10—20 min lang auf etwa 130° C, wobei beide Substanzen noch bei der angegebenen Menge als braun gefärbte Flecken auf weißem Grunde sichtbar werden. Besprüht man die lufttrockenen Chromatogramme mit 1%iger alkoholischer Quecksilber(II)-chloridlösung und anschließend mit einer 0,1%igen alkoholischen Lösung von Diphenylcarbazon (Merck), so bildet Va sofort, Do nach einigen Minuten einen weißen Flecken auf blauviolettem Grunde. Es sind mit diesem Reagens noch je 2 μg der Substanzen erkennbar. Die R_f-Werte betragen unter den angeführten Bedingungen für Va 0,60

bis 0,65, für Do 0,49—0,54. Die Arbeit enthält außerdem Angaben über das papierchromatographische Verhalten von *Barbituraten* und anderen Schlafmitteln (Tabellen, Skizzen und Photos im Original).

[1] Arzneimittel-Forsch. **8**, 412—416 (1958). Univ. Freiburg. K. Söllner

Zum papierchromatographischen Nachweis von Estern niederer Fettsäuren in ätherischen Ölen empfehlen R. Pohloudek-Fabini und K. Luthardt[1] ein von E. Bayer und K.-H. Reuther[2] zur Untersuchung von Aromastoffen in Fruchtsäften, Fetten und Wein angewandtes Verfahren, das auf der Hydroxamsäurereaktion mit Eisen(III)-salzen beruht (die Carbonsäureester werden vorher zu den entsprechenden Hydroxamsäuren umgesetzt). — *Arbeitsweise.* Man löst 20 bis 40 mg der Ölprobe in 10 ml Äther, versetzt mit 1,5 ml 5%iger natronalkalischer methanolischer Hydroxylaminlösung, läßt das Reaktionsgemisch 20 min bei 25° C stehen (Thermostat), neutralisiert dann mit 0,175 ml 32%iger Salzsäure, schüttelt, filtriert vom ausgeschiedenen Natriumchlorid ab, wäscht 3mal mit je 1 ml Äther nach, destilliert den Äther bis auf 0,75 ml ab, überführt mit Methanol in ein 2 ml-Meßkölbchen, gibt 0,2 ml einer 2%igen methanolischen Eisen(III)-chloridlösung zu und füllt mit Methanol zur Marke auf. 0,01 μl der erhaltenen Lösung wird auf ein mit 2%iger methanolischer Eisen(III)-chloridlösung imprägniertes Filterpapier (Schl. & Sch. 2043b M) aufgetragen und unter Verwendung der organischen Phase eines Gemisches aus n-Butanol-Dimethylformamid-Wasser (9:1:10) aufsteigend chromatographiert. Nach einer Laufzeit von 14—16 Std wird das Chromatogramm bei 60° C getrocknet (Trockenschrank). Die Eisen(III)-hydroxamat-Komplexe sind als violette Flecke auf gelbem Hintergrund gut zu erkennen. Nachstehend sind die R_f-Werte für die Ester der betreffenden Carbonsäuren angegeben: *Ameisensäure* 0,21; *Essigsäure* 0,24; *Propionsäure* 0,40; *n-Buttersäure* 0,55; *Isobuttersäure* 0,54; *n-Valeriansäure* 0,71; *Isovaleriansäure* 0,69; *n-Capronsäure* 0,81; *n-Caprylsäure* 0,91. Die Methode bewährt sich bei der Untersuchung von *Baldrianölen*, *Pastinaköl* und *Lavendelöl*.

[1] Naturwissenschaften **45**, 314 (1958). Univ. Greifswald. — [2] Angew. Chem. **68**, 698 (1956); Chem. Ber. **89**, 2541 (1956); vgl. diese Z. **157**, 449 (1957); **158**, 298 (1957). K. Machner

Ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung von Thujon beschreibt D. H. E. Tattje[1]. Als Farbreagens wird *3,5-Dinitrobenzoesäure* verwendet, die mit α- und β-Thujon unter Bildung einer Farbverbindung mit dem Absorptionsmaximum bei 537,5 mμ reagiert. — *Arbeitsweise.* 4 ml der äthanolischen Probelösung mit nicht mehr als 3,3 mg Thujon werden nacheinander mit 5 ml einer 4%igen Lösung von 3,5-Dinitrobenzoesäure in aldehydfreiem Äthanol (die Reagenslösung ist einige Tage haltbar) und 3 ml 4 n Natronlauge versetzt. Man mißt die Extinktion der erhaltenen Farblösung etwa 11—12 min (für α-Thujon) bzw. 3 min (für β-Thujon) nach Zugabe der Natronlauge unter Verwendung von 0,5 cm-Küvetten (Spektralbreite 4 mμ). Zum Vergleich dient eine Lösung aus 4 ml Äthanol, 5 ml der Reagenslösung und 3 ml 4 n Natronlauge, die für jede Bestimmung frisch bereitet wird. Die Reaktion soll bei 20° C durchgeführt werden. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Im Bereich von 0—3,3 mg α-Thujon/12 ml Endlösung folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Für α-Thujon beträgt E (1%; 1 cm) = 72,0; für β-Thujon 104,2 (die jeweiligen Standardabweichungen sind mit 1,13 bzw. 1,58 angegeben). Das beschriebene Verfahren kann zur Thujonbestimmung in *ätherischen Ölen* herangezogen werden.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 689—694 (1958) [Holländisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Rijksuniv. Groningen (Niederlande). K. Machner

Zur colorimetrischen Bestimmung von 1-Piperiton in Eukalyptusölen verwendet D. H. E. TATTJE[1] ebenfalls *3,5-Dinitrobenzoesäure* als Farbreagens. 1-Piperiton reagiert mit 3,5-Dinitrobenzoesäure in alkalischer Lösung unter Bildung einer Farbverbindung mit dem Absorptionsmaximum bei 537,5 mμ. — *Arbeitsweise.* Man mischt 4 ml der äthanolischen Probenlösung mit 0—1,6 mg (nicht mehr als 0,4 mg/ml) 1-Piperiton mit 5 ml einer täglich frisch bereiteten 4%igen Lösung von 3,5-Dinitrobenzoesäure in aldehydfreiem Äthanol, gibt 2 ml 3 n Natronlauge zu, läßt das Reaktionsgemisch 40 min stehen und mißt dann die Extinktion der erhaltenen Farblösung bei 537,5 mμ unter Verwendung von 0,5 cm-Küvetten (Spaltbreite 4 mμ). Die Vergleichslösung (ein Gemisch aus 4 ml Äthanol, 5 ml der Reagenslösung und 2 ml 3 n Natronlauge) wird für jede Bestimmung frisch bereitet. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Die Kurve folgt nicht genau dem Beerschen Gesetz. Die nach dem beschriebenen Verfahren ermittelten Piperitongehalte in Eukalyptusölen liegen um etwa 10% niedriger als die Ergebnisse von Vergleichsanalysen, die nach der von E. GUENTHER[2] angegebenen Sulfitmethode durchgeführt worden sind.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 694—700 (1958) [Holländisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Rijksuniv. Groningen (Niederlande). — [2] The Essential Oils **I**, 283 (1948).

K. MACHNER

Die spektrophotometrische Bestimmung von Sterinen im Wollfett mit Hilfe der Liebermann-Burchard-Reaktion wurde von B. F. BUTNEY und R. CALVO[1] einer genauen Prüfung unterzogen. Dabei ergab sich, daß man bei der gleichzeitigen Bestimmung des Cholesterins (I) einschließlich seiner Ester und der sogenannten „Isocholesteringruppe" einige wichtige Punkte beachten muß. „Isocholesterin" besteht aus Lanosterin (Lanostadienol, II), Dihydrolanosterin, (Lanostenol), Agnosterin und Dihydroagnosterin. Bei gleichen Versuchsbedingungen haben z. B. die Farbkomplexe mit I und II völlig verschiedene Spektren. Ebenfalls unterscheiden sich die Reaktionszeiten, die für die maximale Farbentwicklung benötigt werden. Da sich in diesen Eigenschaften die „Isocholesteringruppe" wie II verhält, konnte unter Zuhilfenahme der Reinsubstanzen I, II, I-acetat und II-acetat das bisherige Verfahren wie folgt modifiziert werden. — *Arbeitsweise.* 10 ml der zu analysierenden Lösung (25—35 mg Wollfett/100 ml Chloroform bzw. 12—16 mg Unverseifbares/100 ml Chloroform) pipettiert man in einen 25 ml Mischzylinder und fügt 5 ml kaltes Liebermann-Burchard(LB)-Reagens zu (dargestellt nach F. E. LUDDY, A. TURNER und J. T. SCANLAN[2]), schüttelt und bringt das Gefäß in ein Wasserbad von 30° C. Ein Leerwert mit 10 ml Chloroform wird gleichermaßen behandelt. Die Reaktion mit LB-Reagens soll unter Lichtausschluß stattfinden. Bei Bestimmung der Ester wird, gerechnet von der Zugabe des Reagenses an, nach 18 min die Absorption bei 630 mμ, nach 30 min die bei 550 mμ gemessen. Bei den unverseifbaren freien Sterinen mißt man nach 24 min bei 630 mμ und nach 28 min bei 550 mμ. Zur Auswertung der Meßergebnisse werden folgende Rechnungen angestellt: Absorptivität (a_x) = Absorption/Konzentration (g/l) · Länge des Lichtweges. Konzentration von I $(g/l) = (A_{630}a_L - A_{550}a_L')/(a_L a_C - a_L' a_C')$; von II $(g/l) = (A_{550}a_C - A_{630}a_C')/(a_L a_C - a_L' a_C')$. A_{630} und A_{550} sind die Absorptionen bei 630 und 550 mμ; a_C und a_C' die Absorptivitäten von I (oder I-acetat) bei 630 bzw. 550 mμ; a_L und a_L' die von II (oder II-acetat) bei 550 bzw. 630 mμ.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 205—210 (1958). — [2] Analyt. Chemistry **25**, 1497 (1953); vgl. diese Z. **144**, 302 (1955).

H. PELZER

Zur colorimetrischen Bestimmung von Digitalisglykosiden eignet sich nach D. H. E. TATTJE[1] von zahlreichen Dinitroverbindungen, die er untersucht, *2,4-Dinitrodiphenylsulfon* am besten als Farbreagens. Auf Grund früherer Untersuchungen[2,3] wird die Farbreaktion bei 20° C nach folgender *Arbeitsweise* durchgeführt:

Man löst das Glykosid oder sein Aglykon in 4 ml 96%igem Äthanol, versetzt mit 5 ml einer 0,075%igen Lösung von 2,4-Dinitrodiphenylsulfon in Äthylalkohol, mischt gut, gibt dann noch 1 ml 0,15 n wäßrige Natronlauge zu und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 600 mμ unter Verwendung von 0,5 cm-Küvetten. Zum Vergleich dient eine Lösung aus 4 ml Äthanol, 1 ml 0,15 n Natronlauge und 5 ml der Reagenslösung. Die Farbreaktion kann noch empfindlicher gestaltet werden, wenn die Probe vorher mit 0,4 n Salzsäure gekocht wird. Nachstehend sind die Extinktionskoeffizienten (1%, 1 cm) für die einzelnen Digitalisglykoside angegeben: *Digitoxin 303* (nach Säurebehandlung 370), *Digitoxigenin 653 (778)*, *Gitoxin (232)* und *Gitoxigenin 314 (464)*.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 245—254 (1958). State Univ. Groningen (Niederlande). — [2] Tattje, D. H. E.: Pharmac. Weekbl. **92**, 877 (1957); vgl. diese Z. **163**, 62 (1958). — [3] Tattje, D. H. E.: J. Pharmacy, Pharmacol., im Druck. K. Machner

Über die Analytik von 5-Nitro-2-furaldehydsemicarbazon (Furacin) berichtet H. Wunderlich[1]. Die Substanz, die wegen ihrer bactericiden und bacteriostatischen Eigenschaften in verschiedenen pharmazeutischen Zubereitungen verwendet wird, dunkelt unter Lichteinwirkung nach. Das Zersetzungsprodukt, das durch Säulen- und Papierchromatographie isoliert werden kann, ist im biologischen Test gegen Bacterium subtilis unwirksam und beeinträchtigt die Wirksamkeit des Furacins nicht. Ebensowenig stört es bei den hier vorgeschlagenen quantitativen polarographischen und photometrischen Bestimmungen des Furacins. — *Ausführung. 1. Polarographische Bestimmung.* Bei wasserlöslichen Präparaten wird eine Einwaage, die 10 mg Furacin enthält, mit Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Bei fetthaltigen Präparaten wird die Einwaage zuerst mit 20 ml Äthanol erwärmt. Der sich nach dem Abkühlen bildende Fettkuchen stört nicht, der Meßkolben kann so aufgefüllt werden. Die Messung erfolgt in wäßriger und wäßrig-alkoholischer Lösung von Tetraäthylammoniumjodid, Lithiumchlorid oder Kaliumchlorid. Man versetzt z. B. 10 ml 0,1 n KCl-Lösung mit 1 ml der Furacinlösung, entgast 5 min lang mit Stickstoff und polarographiert von 0 V bis —1,0 V. Es ergeben sich mehrere Stufen, von denen die der Reduktion der NO_2-Gruppe entsprechende Stufe gemessen wird. Sie ist durch $\pi_{1/2} = -0{,}52$ V (gegen die n-Kalomelelektrode) definiert. Die Stufenhöhe ist zwischen 0,0001—0,001 m der Konzentration proportional. Die Fehler betragen etwa $\pm$ 3%. — *2. Die photometrische Bestimmung* beruht darauf, daß sich Furacin in Alkalien tief braunrot löst. 1 g der wasserlöslichen Präparate wird im Meßkolben auf 100 ml mit Wasser aufgefüllt. Davon werden 5 ml entnommen und mit 0,1 n Natronlauge zu 100 ml ergänzt. Die Messung muß wegen der Lichtempfindlichkeit der Lösung sofort erfolgen. Sie wird im Pulfrich-Photometer bei 1 cm Schichtdicke mit dem Filter S 45 durchgeführt. Aus dem Extinktionswert E läßt sich entweder aus einer Eichkurve oder nach der Formel mg-% = 1,33 E der Gehalt bestimmen. Bei fetthaltigen Präparaten wird die Einwaage mit Äthanol erwärmt, nach dem Abkühlen auf 100 ml mit Äthanol aufgefüllt, 5 ml werden entnommen und wie oben weiterverarbeitet. Die mittlere Fehlerbreite beträgt $\pm$ 10% für die wasserlöslichen, $\pm$ 15% für die fetthaltigen Präparate.

[1] Pharmazie **13**, 202—209 (1958). Staatl. Inst. Arzneimittelprüf., Radebeul. Ursula Baumann

Alkaloide. *Für die Bestimmung von Coffein in Gegenwart von Antipyrin und Phenacetin* geben E. Sjöström und L. Nykänen[1] eine *Ionenaustauschermethode* an, die darauf beruht, daß das Ionenaustauscherharz Dowex-50 in seiner Eisenform die Fähigkeit besitzt, Antipyrin als unlöslichen Komplex zu binden, während Coffein

eluierbar bleibt. — *Arbeitsweise.* Zunächst erhitzt man das neben Antipyrin und Phenacetin etwa 25—50 mg Coffein enthaltende Analysenmaterial 1 Std lang unter Rückfluß mit 20 ml 0,5 n Salzsäure, wodurch Phenacetin in das in Chloroform unlösliche Phenetidinhydrochlorid übergeführt wird. Nach Abkühlung schüttelt man die Lösung 3mal mit je 20 ml Chloroform aus, engt die nur Coffein und Antipyrin enthaltenden Chloroformauszüge im Vakuum zur Trockne ein und nimmt den Rückstand in 10 ml Wasser auf. Diese Lösung bringt man auf die Spitze einer auf 70° C erwärmten Säule von in die Ferriform gebrachtem Dowex-50 (Angaben über dessen Herstellung im Original) und eluiert langsam mit Wasser. Unter Bildung einer dunkelbraun gefärbten Zone wird Antipyrin vollständig adsorbiert, während Coffein ausgewaschen wird. Die quantitative Bestimmung des Coffeins erfolgt durch Ermittlung des Extinktionswertes des Eluates bei 272 mμ (Absorptionskurve im Original) und Vergleich mit analog behandelten Standard-Coffeinlösungen.

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **47**, 248—249 (1958). Lääketehdas Orion Oy, Helsinki (Finnland). K. Söllner

Die papierchromatographische Wertbestimmung von Mutterkorndrogen haben H. Lukesch und H. Pötter[1] bearbeitet. — *Arbeitsweise.* Man entfettet 72 Std lang bei 38° C getrocknete, feinstgemahlene Droge 8 Std lang im Soxhletapparat mit Petroläther (Fraktion 40—60° C), trocknet das Extraktionsgut 1 Std lang bei 38° C und extrahiert 2 g des Pulvers durch 4 Std langes Schütteln mit 50 ml Äther-Ammoniak (99:1). Das Filtrat engt man im Luftzug zur Trockne ein. Nachdem man in einem aliquoten Teil des Analysenmusters mit dem Reagens von van Urck die Bestimmung der Gesamtalkaloide durchgeführt hat, trägt man von dem Extraktionsrückstand 7mal je 200 μg der Gesamtalkaloide in Abständen von je 1 cm auf 50 cm lange Streifen von Schl. & Sch.-Papier 2043b (gl) auf. Zwei der Startflecke dienen zur Entwicklung der wasserunlöslichen, 2 weitere für die Bestimmung der wasserlöslichen Alkaloide. Man führt die absteigende Chromatographierung bei möglichst konstanter Temperatur zwischen 13 und 15° C während 3 Std nach dem Verfahren von K. Macek u. Mitarb.[2] durch, jedoch ohne der von diesen Autoren vorgeschriebenen mobilen Phase Chloroform zuzusetzen. Die aus einer 50%igen Lösung von Formamid in Äthanol bestehende stationäre Phase neutralisiert man auf p_H 7,0—7,5 bzw. bringt sie für die Auftrennung der wasserunlöslichen Basen auf p_H 10. Für die 4 Std dauernde Entwicklung von Ergocornin und Ergocristin verwendet man Petrolbenzin (Fraktion 50—60° C), die Auftrennung der wasserlöslichen Basen Ergometrin, Ergometrinin, Lysergsäure und Isolysergsäure erfolgt mit Chloroform. Ist die nach K. Macek u. Mitarb. durchgeführte Entwicklung mit Benzol bzw. Petrolbenzin-Benzol beendet, so trocknet man die Chromatogramme und entwickelt sie 15 Std lang im Durchlauf mit Chloroform. Anschließend trocknet man die Streifen 1 Std lang im Dunkeln, kennzeichnet die im UV-Licht fluorescierenden Alkaloidflecken, schneidet sie sofort aus und eluiert sie durch 2stündiges Schütteln mit 2%iger Weinsäurelösung. Man versetzt dann jedes der Eluate mit 6 ml van Urck-Reagens (siehe unten), filtriert nach genau 30 min durch eine G 3- oder G 4-Fritte vom Papier ab und ermittelt sofort im Pulfrich-Photometer mit Filter S 55 in der Kleinküvette die Intensität. Die Auswertung der gefundenen Meßwerte ist im Original beschrieben. — *Van Urck-Reagens.* Man löst 400 mg p-Dimethylaminobenzaldehyd in 200 ml 65%iger Schwefelsäure und gibt 0,06 ml Eisen(III)-chloridlösung (D 1,20) zu. Das Reagens ist 30 min nach der Zubereitung verwendbar.

[1] Pharmazie **13**, 364—373 (1958). Arzneimittelwerk, Dresden. — [2] Pharmazie **9**, 388, 752 (1954); **10**, 422 (1955); vgl. diese Z. **150**, 240 (1956); **154**, 456 (1957); **158**, 144 (1957). K. Söllner

Die Glykoalkaloide des Solaninkomplexes trennen J. Šerák und M. Kutáček[1] mit Hilfe eines zweidimensionalen Verfahrens. Es wird dabei das Gemisch (80 bis 500 μg) auf Whatman-Papier Nr. 1 (30×45 cm) mit 2,5 m Essigsäurelösung unter Anwendung der Spannung von 140 V 18 Std der Elektrophorese unterworfen. Dann wird senkrecht zur Richtung der Elektrophorese mit Äthylacetat-Eisessig-Wasser (11:1:2) chromatographiert, die Flecken werden mit $SbCl_3$ in Chloroform sichtbar gemacht. Auf einem anderen Bogen, der gleichartig behandelt worden ist, werden die Stellen der Flecken ausgeschnitten, mit 1%iger Essigsäurelösung eluiert und mit Formaldehyd in Schwefelsäure[2] colorimetrisch bestimmt. Auf diese Weise haben die Verff. in Kartoffelknollen das α-*Solanin* und das α-*Chaconin* gefunden. Aufstellung einer Eichkurve beseitigt den Fehler (etwa 5,7%), der durch Verluste bedingt ist. Die Eichkurve gewinnt man, indem dasselbe Verfahren mit Standardmustern durchgeführt wird.

[1] Českoslov. Farmac. **7**, 322—324 (1958) [Tschechisch]. (Mit russ., engl. u. dtsch. Zus.fass.) Landwirtsch. Hochsch. Prag (ČSR). — [2] Pfankuch, E.: Biochem. Z. **44**, 295 (1937). Z. Stejskal

4. Analyse von biologischem Material

In Verfolg der Untersuchungen über den Äthylenstoffwechsel der Tomatenfrucht berichtet M. S. Spencer[1] über ihre Versuche zur *Bestimmung des totalen und des mit ^{14}C markierten Äthylengehaltes.* Das mit ^{14}C markierte Äthylen wird mit einem Luftstrom durch eine Lösung von 0,25 m Quecksilberperchlorat in 2 m Perchlorsäure hindurchgeleitet. Diese Lösung wird mit Äthylenglykol im Verhältnis 15:85 gemischt, die Radioaktivität wird gemessen. Mit der gleichen Probe ist auch die Bestimmung des gesamten Äthylengehaltes möglich. Der bei obiger Bestimmung entstehende Äthylenkomplex wird durch 4 m Lithiumchloridlösung zerstört, so daß das entweichende Äthylen manometrisch bestimmt werden kann. Für die im pflanzlichen Stoffwechsel auftretenden geringen Mengen von Äthylen wurde eine Mikroabsorptionsapparatur geschaffen.

[1] Canad. J. Biochem. Physiol. **36**, 595—601 (1958). Univ. Edmonton, Alberta (Canada). B. Rossmann

Adrenalinbestimmung im Urin. M. del Refugio Balcázar-de-Aztegui, M. Aubanel Herrera, P. Hernández Arzaba, A. Trujillo González und J. Balcázar Padilla[1] unterziehen die gebräuchlichen Methoden zur Bestimmung von Catechinaminen, insbesondere Adrenalin und Noradrenalin, im Urin einer kritischen Prüfung. Sie verwerfen die biologischen, colorimetrischen und photometrischen Methoden, da diese zu geringe Empfindlichkeit und Spezifität aufweisen. Die fluorimetrische Methode nach Euler[2] und deren Modifikation nach Sobel[3] halten Verff. unter gewissen Voraussetzungen für brauchbar. Sie empfehlen ein neues fluorimetrisches Verfahren, das auf der Bildung einer fluorescierenden Substanz in stark alkalischer Lösung beruht. — *Arbeitsweise.* Der Harn von 24 Std wird in einem Gefäß, das 200 ml Sörensen-Pufferlösung von p_H 4 enthält, gesammelt und kühl aufbewahrt. 200 ml der Lösung werden mit 1 n Natronlauge, auf p_H 8,5 eingestellt und filtriert. In 6 Versuchsgefäße werden 0, 1, 2, 3, 4, 5 μg Adrenalin und je 10 oder 20 ml der filtrierten Urinlösung gegeben. Der Inhalt der Gefäße wird in 300 ml-Erlenmeyer-Kolben übergeführt, mit 9 g Aluminiumoxyd nach Baker und 150 ml Sörensen-Pufferlösung versetzt, und 5 min geschüttelt. Man dekantiert oder zentrifugiert (falls nötig), gibt 150 ml 1:4 verdünnte Sörensen-Pufferlösung zu und dekantiert von neuem. Das wiederholt man 4mal. Dann extrahiert man das Adrenalin mit 13 ml 0,025 n Oxalsäurelösung, zentrifugiert bei 8000 U/min 15 min

lang, gibt zur klaren Lösung 3 ml 20%ige Natronlauge zu und mißt die Fluorescenz der stark alkalischen Lösung in einem Fluorimeter. An Hand der Standardzusätze wird der Adrenalingehalt graphisch ermittelt. Die Bestimmung von Noradrenalin erfolgt analog.

[1] Ciencia (Mexico) **17**, 217–222 (1957). Centro Méd. „Bios" und Lab. clin. Frontera, Mexico D.F. — [2] von Euler, U. S., u. I. Floding: Acta physiol. scand. **33**, 57 (1955). — [3] Sobel, Ch., u. R. J. Henry: Amer. J. clin. Pathol. **27**, 240 (1957); vgl. diese Z. **160**, 225 (1958). Irmgard Pfitzer

Der chromatographische Nachweis von geringen Mengen Thyroxin im Serum gelingt V. Štolc[1] durch Modifizierung der Methode von C. H. Bowden, N. F. MacLagan und J. H. Wilkinson[2]. Das Chromatogramm wird mit einer Lösung (1:1) von 0,2 n Cer(IV)-ammoniumsulfat und 1,0 n Natriumarsenit besprüht und nach Abtropfen 15 min bei Zimmertemperatur trocknen gelassen. Es wird dann entweder zur Untersuchung im UV-Licht durch eine 0,5%ige Lösung von Fluorescein oder eine 5%ige von Anthranilsäure (jeweils in Aceton) gezogen und im Luftstrom getrocknet oder zur visuellen Lokalisierung mit einer 1,0%igen Lösung von o-Toluidin (in Aceton) besprüht, wobei das Thyroxin in blaßgelben Flecken auf dunkelbraunem Grund erscheint. Die Farbe ist geraume Zeit beständig. Die Empfindlichkeit liegt bei 0,01 μg Thyroxin.

[1] Nature (London) **182**, 52 (1958). Slowak. Akad. Wiss. Bratislava (ČSR). — [2] Biochemic. J. **59**, 93 (1955); vgl. diese Z. **149**, 236 (1956). Ursula Baumann

Die papierchromatographische Untersuchung von Thyroxin- und anderen Jodthyroninpräparaten führt man nach Sz. Donhoffer, I. Járai, Gy. Mestyán, Gy. Szegvári und I. Várnai[1] wie folgt durch: Man löst je 1 mg der zu prüfenden Substanzen in 2 ml Butanol oder in 2 Tr. 0,1 n Natronlauge unter sofortigem Auffüllen mit bidest. Wasser auf 2 ml, trägt auf Macherey-Nagel-Papier Nr. 214 5–15 μg entsprechende Mengen der Lösungen auf und entwickelt aufsteigend mit Butanol-Dioxan-2 n Ammoniak (4:1:5) bei Raumtemperatur während 24 Std. Den Jodnachweis führt man mittels der Cer(IV)-sulfat-Arsenigsäurereaktion nach C. H. Bowden, N. F. MacLagan und J. H. Wilkinson[2] durch. 10 min nach Sichtbarmachung erfolgt die photographische Registrierung auf Dokufilm Forte (gelbunempfindlich). Mit Hilfe dieser Technik untersuchten die Verff. folgende Präparate: *Thyroxin, D,L-Thyroxin* (in Butanol gelöst), *L-Trijodthyronin* (in Natronlauge gelöst), *L-Tetrajodthyroessigsäure* (in Butanol gelöst) und *L-Trijodthyroessigsäure* (in Natronlauge gelöst). Dabei zeigt sich, daß jedes Präparat mehrere jodhaltige Komponenten mit unterschiedlichen R_f-Werten aufweist.

[1] Naturwissenschaften **45**, 264 (1958). Univ. Pécs (Ungarn). — [2] Biochemic. J. **59**, 93 (1955); vgl. diese Z. **149**, 236 (1956). K. Söllner

Sterine, Steroide. *Zur quantitativen Anwendung der Probendispersion in Kaliumbromid zur Infrarotanalyse von Steroiden* verwenden H. Rosenkrantz, P. Potvin und P. Skogstrom[1] statt der bisher bekannten Scheibchen nunmehr viereckige Prismen von 0,406 ± 0,012 mm Dicke (18,4 mg KBr). Das dazu notwendige Spezial-Preßwerkzeug wurde schon an anderer Stelle genau beschrieben[2]. Mit Hilfe einer besonderen Haltevorrichtung wird das KBr-Prisma ganz nahe an den Schlitz herangebracht, wodurch die sonst notwendige Bündelung wegfällt. Damit lassen sich Steroidmengen in der Größenordnung von 0,05–0,2 mg photometrieren. Liegt das betreffende Steroid in sehr reiner Form vor, so kann man das neue Verfahren

unter gewissen Voraussetzungen zur quantitativen Bestimmung heranziehen. Dabei muß aber die Höhe der Verluste bei der Bereitung der Prismen möglichst bekannt sein. Ferner haben einzelne Steroide verschiedene Konzentrationsbereiche optimaler Meßgenauigkeit. Bei der quantitativen Auswertung der erhaltenen Kurven geht man dann so vor, daß man zu beiden Seiten der charakteristischen Bande Transmissionsmaxima auswählt, deren geradlinige Verbindung die sogenannte Basislinie darstellt. Diese wird dann als 100% Transmission angenommen (I_0). Log I_0/I ist nun ein Maß für die Konzentration des gemessenen Steroids. Sollen 2 oder mehrere Steroide gleichzeitig bestimmt werden, so wählt man zur quantitativen Auswertung jeweils eine für das betreffende Steroid spezifische Bande und gibt dieser eine geeignete Basislinie. Bei Versuchen mit Reinsubstanzen haben die Verff. eine Fehlerbreite von etwa 20% beobachtet. — Zur Bestimmung von *Cortison und Cortisol in Nebennierenextrakten bzw. Blut* (Zusatzversuche, 5 mg/g, bzw. 5 mg/100 ml!) wird nach der Enteiweißung zuerst zwischen 70% Methanol und Ligroin verteilt, der Methanolrückstand einer Chromatographie an Silicagel unterworfen und schließlich der Eluatrückstand im UR photometriert. Der Vorteil des Verfahrens liegt in den kleinen Substanzmengen, der Nachteil in der sehr großen Empfindlichkeit gegenüber Verunreinigungen und der relativ großen Fehlerbreite.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 975—977 (1958). Worcester Found. exp. Biol., Shrewsbury, Mass. (USA). — [2] Rosenkrantz, H.: Methods of Biochemical Analysis, Vol. II, S. 21, Interscience, New York, 1955. H. Pelzer

F. J. Ritter und J. Hartel[1] berichten über eine *qualitative, quantitative und präparative Papierchromatographie der Steroide* mit vollacetyliertem Papier. Nach 3 verschiedenen Arbeitsweisen werden Steroidtrennungen vorgenommen.—*Methode A.* Vollacetyliertes Whatman-Papier Nr. 1, das nach Zijps Methode[2] präpariert worden ist, wird in Verbindung mit einer einphasigen Mischung aus Benzol-Methanol-Wasser (1:10:3) verwendet. Das Arbeiten ist einfach und schnell, es können reproduzierbare R_f-Werte erhalten werden, eine „Schwanzbildung" ist jedoch bisweilen zu beobachten. — Die *Methode B* arbeitet deshalb mit einer zweiphasigen Mischung aus Benzol-Methanol-Wasser (4:4:1). Die untere Schicht, hauptsächlich Benzol, wird zur Äquilibrierung benutzt, die obere, im wesentlichen aus Methanol bestehend, dient als mobile Phase. Eine große Zahl verschiedener Steroide läßt sich so gut trennen. — Bei *Methode C* werden die beiden Phasen der Methode B umgekehrt verwendet, was sich vor allem für stark polare Steroide lohnt. — Die R_f-Werte weichen selten mehr als 0,02 vom Mittelwert ab, sie sind für 19 Steroide angegeben. Präparative Arbeiten lassen sich mit den gleichen Laufmittelsystemen mit dickem Papier (Whatman 3 MM, vollacetyliert) oder mit Säulen aus Papierplatten („Chromatopiles", Schl. & Sch. 2043a, vollacetyliert) durchführen. Die quantitative spektrophotometrische Bestimmung der Substanzen nach der Elution bei 242 bzw. 240 mμ zeigt, daß sich so 80—120 μg *Cholestenon* und *Progesteron* mit einem relativen Fehler von weniger als 5% bestimmen lassen.

[1] Nature (London) **181**, 765—766 (1958). Centraal Lab. T.N.O., Delft (Holland). — [2] Zijp, J. W. H.: Chem. Weekbl. **51**, 547 (1955); vgl. diese Z. **150**, 427 (1956).
D. Jentzsch

Die Chromatographie von Sterinen, Steroiden und verwandten Verbindungen behandelt R. Neher[1] im zweiten Teil seines Übersichtsreferates[2]. Im Teil B, in welchem die Papierchromatographie dieser Stoffklassen sehr ausführlich behandelt wird, zitiert der Verf. 389 Literaturstellen. Auf Grund seiner eigenen großen experimentellen Erfahrung gelingt es ihm, dieses schon fast unübersehbar

gewordene Gebiet in klarer und geordneter Form zu bearbeiten. — Das Referat ist in folgende Abschnitte unterteilt: 1. Allgemeine Arbeitsmethodik, a) Lösungsmittelsysteme, b) Papier, c) Aufbringen der Substanz, d) Bedingungen der Chromatographie und Apparatives, e) Nachweisreaktionen, Auswertung, f) zusätzliche Methoden zur Identifizierung, g) allgemeine Trennungsschemata, h) präparative Papierchromatographie, i) quantitative Methoden. 2. Spezielle Methoden, a) Sterine, b) C_{18}-Steroide (Oestrogene), c) C_{19}-Steroide (17-Ketosteroide), d) C_{21}-Steroide (Corticosteroide), e) Glykoside und Aglykone (Cardenolide, Bufadienolide), f) Saponine und Sapogenine, g) Gallensäuren, Steroidcarbonsäuren, h) Steroidkonjugate, i) Aminosteroide und Steroidalkaloide. 3. Chemische Struktur und chromatographisches Verhalten.

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 205—258 (1958). CIBA AG., Basel/Schweiz. — [2] 1. Teil: Neher, R.: J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 122 (1958); vgl. diese Z. **166**, 75 (1959). H. Pelzer

Die papierchromatographische Trennung der 17-Ketosteroide aus Harn läßt sich nach L. Stárka[1] auf einfache Weise im Lösungsmittelsystem Äthylenglykol (ÄG)/Petroläther ausführen. Auf Whatman-Papier Nr. 1 wird jene Extraktmenge, die $^1/_{50}$—$^1/_{30}$ der Tagesmenge des säure- oder enzymhydrolysierten Harnes entspricht, in einem kleinen Fleck aufgetragen. Nun imprägniert man das Papier mit einer 30%igen ÄG-Lösung in Methanol, bringt das Papier nach 15 min in eine mit Petrolätherdampf gesättigte Kammer und entwickelt nach 30 min Äquilibration das Chromatogramm absteigend mit Petroläther (Kp. 45—65° C). Gute Chromatogramme erzielt man dann, wenn die Lösungsmittelfront innerhalb 3 Std etwa 30—35 cm zurücklegt. Die Anfärbung bzw. quantitative Bestimmung geschieht auf übliche Weise mit Zimmermann-Reagens. Die R_f-Werte einzelner 17-Ketosteroide in dem genannten System sind: *11-Hydroxyandrosteron* 0,06; *11-Ketoätiocholanolon* 0,13; *Dehydroepiandrosteron* 0,47; *epi-Androsteron* 0,56; *Ätiocholanolon* 0,54; *Androsteron* 0,67; *i-Androsteron* 0,76; *5-Androsten-3β-chloro-17-on* 0,92. Ätiocholanolon und epi-Androsteron trennen sich nicht.

[1] Naturwissenschaften **45**, 240—241 (1958). Forschungsinst. Endokrinologie, Prag (ČSR). H. Pelzer

Vergleichende Untersuchungen über die Verteilung der 17-Ketosteroide im Harn von gesunden und krebskranken Frauen unter verschiedenen Hydrolysebedingungen beschreiben W. Staib und W. Schild[1]. Schon früher hatten S. Lieberman, B. Mond und E. Smyles[2] darauf hingewiesen, daß man für genaue Steroidanalysen im Harn die Steroidkonjugate statt mit kochender Säure besser durch eine fraktionierte Hydrolyse spaltet. Dieses Verfahren, das in einer Aufeinanderfolge von β-Glucoronidase- und Säurehydrolyse im gleichen Harn besteht, wird nun zur Durchführung von Reihenuntersuchungen über die Steroidausscheidung von gesunden und krebskranken Frauen empfohlen. Als Grundlage dient der exakte Vergleich verschiedener zur Zeit üblicher Hydrolyseverfahren im selben Harn: a) Säurehydrolyse in der Hitze, b) Säurehydrolyse zuerst bei Raumtemperatur, dann in der Hitze, c) Säurehydrolyse bei Raumtemperatur mit kontinuierlicher Ätherextraktion, d) Fermenthydrolyse bei Raumtemperatur, dann Säurehydrolyse bei Raumtemperatur und anschließend Säurehydrolyse unter Kochen. Das Verfahren c ist besonders zur genauen Erfassung der säureempfindlichen 11-oxygenierten 17-Ketosteroide geeignet.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 600—604. Med. Akad. Düsseldorf. — [2] Recent Progr. Hormone Res. **9**, 113 (1954). H. Pelzer

Bei der Bestimmung von 11-Desoxy-17-ketosteroiden im Harn adrenalektomierter Frauen fanden R. D. Bulbrook, F. C. Greenwood und B. S. Thomas[1], daß die Methode von A. E. Kellie und A. P. Wade[2] für genaue Analysen ungeeignet ist. Beim Umsatz des Harnextraktes mit Girard T-Reagens werden die 17-Ketosteroide zum Teil acetyliert, was zu falschen Ergebnissen führt. Der nicht über Girard T-Reagens gereinigte Extrakt enthält aber viele störende Chromogene. Die stärkste Chromogenüberlagerung ist auf ein Indigorot zurückzuführen, das durch Reduktion mit alkalischem Natriumdithionit entfernt werden kann. Der Harnextrakt enthält fernerhin Stoffe, die aus der Säule mit den 11-Desoxy-17-ketosteroiden eluiert werden und auch eine positive Zimmermann-Reaktion geben. Da diese Störsubstanzen vor der Säulenchromatographie nicht entfernt werden können, schlagen Verff. eine zweite Trennung durch Papierchromatographie vor.

[1] Biochemic. J. **69**, 19 p (1958). Imp. Cancer Res. Found., Royal College Surgeons, Lincolns Inn Fields, London (England). — [2] Biochem. J. **66**, 196 (1957).

H. Pelzer

Die Bestimmung von Steroidhormongemischen in öligen Lösungen beschreiben G. Tappi, E. M. Andreoli und E. Frea[1]. Eine Lösung von 1 mg *Oestradiolbenzoat*, 4 mg *Progesteron* und 5 mg *Methylandrostendiol-dipropionat* in 0,2 ml Olivenöl wird in 20 ml Petroläther gegeben und diese Mischung auf eine zuvor mit Petroläther befeuchtete Florisil-Säule (10 g, 60—100 mesh; 1 cm ⌀) gebracht. Dann wird nacheinander mit a) 100 ml Petroläther, b) 50 ml Petroläther mit 25% Chloroform, c) 100 ml Petroläther-Chloroform (1:1), d) Chloroform und e) 100 ml Chloroform-Methanol (1:1) eluiert und die Eluate im automatischen Fraktionssammler in Anteilen von je 4 ml aufgefangen. In a und b (Fraktionen 1—50) findet sich nur das Öl, in c (Fraktionen 52—63) das Methylandrostendiol-dipropionat, in d (Fraktionen 81—92) das Progesteron und in e das Oestradiolbenzoat. Die isolierten Hormone werden durch die üblichen Farbreaktionen oder spektrophotometrisch nachgewiesen.

[1] Pharmac. Weekbl. **93**, 231—234 (1958). Univ. Turin (Italien).

Ursula Baumann

Ein neues Verfahren zur getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone auf der Grundlage des Kober-Testes. Zu dieser Arbeit von W. Pschyrembel und G. E. Halder[1] hatten B. Rässler und W. Hohlweg[2] Stellung genommen. W. Pschyrembel und G. E. Halder[3] führen nun in einer Entgegnung aus, daß es aus mehreren Gründen ratsam ist, auf die Anwendung von Aktivkohle zu verzichten. Es treten damit Verluste durch irreversible Adsorption und durch chemische Veränderung auf. Dagegen gelingt durch die mitgeteilte Reinigung der Oestrogene, wie Wasserdampf-Destillation, Trennung über die Natriumsalze, Chromatographie und Restfarbenbestimmung eine ungestörte Farbreaktion. Durch Zusatzversuche (10—5000 µg Oestron bzw. 20—10000 µg Oestriol/600 ml Harn) wurde gezeigt, daß 90—95% des eingesetzten Steroids wiedergefunden werden.

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 154 (1957); vgl. diese Z. **161**, 155 (1958). — [2] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 281 (1958). — [3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **310**, 284—285 (1958). Städt. Krankenhaus Friedrichshain, Berlin.

H. Pelzer

Die chromatographische Trennung von Oestriol, Oestron und Oestradiol-17β gelingt nach T. Seki[1] gut an partiell veresterten Kationenaustauschern vom Carbonsäure-Typ. — *Arbeitsweise.* Etwa 30 ml „Amberlite IRC-50" (H-Form, 200 bis 300 mesh, gesiebt, in der Na-Form) werden mit 400 ml Äthanol-n Salzsäure (2:1 v/v) 40 Std gekocht. Dann wäscht man das teilweise veresterte Harz mit

Äthanol-Wasser (3:2 v/v) und suspendiert in 2 Vol. des gleichen Gemisches. Hiermit schlämmt man in ein Chromatographierohr (⌀ = 0,8 cm) und läßt zu einer Höhe von 62 cm absitzen. 1 ml der Oestrogenlösung wird sodann auf die Säule gebracht und man eluiert mit demselben Lösungsmittel. Fraktionen zu 40 Tr. fängt man auf und mißt die UV-Absorption bei 280 mμ. Die Konzentrationsmaxima der sehr schön getrennten Steroide erscheinen bei Fraktion Nr. 28 (Oestriol), Nr. 35 (Oestradiol-17β) und Nr. 41 (Oestron). Beim Einsatz von je 400—800 μg Reinsteroiden wurden 90—100% wiedergefunden. — Die Anwendung dieser Methode auf die quantitative Analyse von Harn-Oestrogenen soll an anderer Stelle publiziert werden.

[1] Nature (London) **181**, 768 (1958). Univ. Osaka (Japan). H. Pelzer

Zur Trennung der Flavine aus Mikroorganismen wendet J. L. Peel[1] die Papierelektrophorese an. Dafür müssen zuvor die gezüchteten Organismen extrahiert und die Extrakte gereinigt werden. Es werden etwa 2 g Trockenmasse entsprechende Mengen aus den Kulturen durch Zentrifugieren gewonnen und in 100—200 ml Wasser suspendiert. Dann wird wieder zentrifugiert und das Naßgewicht bestimmt. Man suspendiert wieder in Wasser (so, daß man 200 mg Naßzellen/ml erhält) und benutzt 1 ml der Suspension zur Trockensubstanzbestimmung bei 100° C (4 Std). Zum Rest der Aufschwemmung gibt man $^1/_4$ des Volumens 50%ige Trichloressigsäure und zentrifugiert nach 5 min mit 9000 g 10 min lang. Der trichloressigsaure Extrakt (mit 0,2—1,0 μMol Gesamtflavin) wird über eine Florisilsäure (11 mm ⌀, 6 g Florisil, 30/60 mesh) chromatographiert, die auf einen p_H-Wert zwischen 6 und 7 eingestellt worden ist. Mit 2%iger Essigsäure bringt man den Extrakt auf und wäscht dann (5—10 ml/min) mit 100 ml 2%iger Essigsäure, 100 ml Wasser und 100 ml (unter Umständen weniger) 0,5%igem wäßrigem Pyridin nach. Mit 25%igem wäßrigem Pyridin löst man die Flavine aus der Säule (10—20 ml) und extrahiert mit 5—10 Teilen Chloroform (3 mal) und dann mit Äther das Pyridin aus der Flavinfraktion. Gelösten Äther entfernt man durch Lüften und stellt mit Natronlauge auf p_H 7 ein. Man mißt Volumen und Farbstärke (A) und schließt eine Gefriertrocknung an. Den Rückstand nimmt man in 1—2 ml Wasser auf, zentrifugiert und benutzt die Lösung für die Elektrophorese. Auf dem Papierstreifen wird in einer Entfernung von 8 cm von der Mitte ein 8 cm langer Strich mit etwa 0,1—0,2 μMolen Flavin aufgetragen. Nach Trocknung tränkt man bis 1 cm an den Strich heran mit Pufferlösung (0,025 m Ameisensäure-Ammoniumformiat, p_H 4,6) und trocknet zwischen Filtrierpapier ab. Die Elektrophorese läuft 2 Std mit 1000 V, d. h. mit 20 V/cm und 10 Milliamp. Mit Tetrachlorkohlenstoff wird auf Raumtemperatur gekühlt. Die Wanderungen zur Anode werden für die einzelnen Flavine wie folgt angegeben: *Riboflavin* —1,6 cm; *Flavinmononucleotid* 10,1 cm; *Flavinadenindinucleotid* 15,0 cm; *Lumiflavin* —1,3 cm; *Riboflavinylglucosid* —1,8 cm; *Lumichrom* —0,2 cm. Nach Zerschneiden des Streifens eluiert man die Flavine mit Wasser und mißt Volumen und Farbstärke (B). Bei der Extraktion nach A werden 80%, bei der nach B 90% wiedergefunden. Die ermittelten Extinktionswerte ε für Riboflavin (RBF) und Flavinmononucleotid (FMN) sind $\varepsilon_{RBF} = \varepsilon_{FMN} = 11{,}0 \cdot 10^3\,l \cdot Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$, während $\varepsilon_{FAD} = 9{,}8 \cdot 10^3\,l \cdot Mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ (FAD = Flavinadenindinucleotid) ist. FMN und FAD sind in allen untersuchten Organismen gefunden worden. Die Gehalte sind in den einzelnen Arten stark unterschiedlich.

[1] Biochemic. J. **69**, 403—416 (1958). Univ. Sheffield (England). B. Rossmann

Zur Bestimmung des Vitamin D-Gehaltes im Blutserum verseifen W. N. Bukin und I. N. Garkina[1] das Blutserum, trennen die Sterine mit Digitonin ab, entfernen Vitamin A und die Carotinoide durch Chromatographie an einer Bentonitsäule, reinigen das Vitamin D papierchromatographisch und bestimmen es colorimetrisch

über die $SbCl_3$-Reaktion. — *Ausführung.* 5 ml Blutserum (mit normalerweise 8—10 μg Vitamin D) werden mit soviel KOH versetzt, als zur Erreichung einer Konzentration von 25% notwendig ist, und durch einstündiges Kochen am Rückfluß verseift. Nach Verdünnen der Mischung um das 2fache wird 4mal mit je 20 ml Äther extrahiert. Die Ätherlösung wird 2mal mit 8%iger Alkalilösung und dann mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Der nach Trocknen mit Natriumsulfat und nach Abdestillieren des Äthers erhaltene Rückstand wird mit 5 ml Alkohol aufgenommen und zur Ausfällung der Sterine mit 5 ml einer 1%igen alkoholischen Digitoninlösung versetzt. Man filtriert, verdünnt das Filtrat mit Wasser um das 2fache und nimmt die Lipoide mit Äther auf. Der Ätherextrakt wird durch Behandeln mit Wasser von Alkohol und überschüssigem Digitonin befreit. Den Rückstand vom Ätherextrakt nimmt man mit 1 ml Benzol auf; diese Lösung läßt man durch eine Bentonitsäule (500 mg Bentonit mit Aceton und Alkohol waschen, an der Luft trocknen, in eine Säule von 6—7 mm Durchmesser geben und mit Benzol anfeuchten) laufen. Die farblosen Fraktionen werden aufgefangen und mit Benzol ausgewaschen. Nach Abdampfen des Benzols nimmt man in Äther auf und überführt in ein kleines Probierglas, verdampft den Äther und gibt zum Rückstand genau 0,2 ml Methylalkohol. Für die Papierchromatographie wird das Papier (D 85, Wolodarsk, Leningrad) in Streifen von 14×60 cm geschnitten, zusammengerollt und 20 Std lang in 10%ige Salzsäure gestellt. Dann spült man mit dest. Wasser bis zur neutralen Reaktion, darauf mit Methanol und schließlich mit Äther und trocknet. Dieses Papier wird wieder gerollt und 2—3 Std lang in eine 10%ige Lösung von Aluminiumsulfat gestellt. Anschließend werden die Röllchen in 3%iger Ammoniaklösung über Nacht aufbewahrt. Nach Waschen mit dest. Wasser bis zur neutralen Reaktion wird das mit $Al(OH)_3$ imprägnierte Papier mit Methanol und Äther gespült und getrocknet. Über die Streifen läßt man dann in der Entwicklungskammer zunächst Chloroform und nach dem Trocknen Methanol laufen. Nun werden auf jeden Streifen 3 Flecken der zu untersuchenden Lösung (je 0,05 ml) und ein Fleck einer Standardlösung von kristallisiertem Vitamin D (3—5 μg) aufgetragen. Ein zweiter Streifen dient als Kontrolle. Man chromatographiert absteigend mit dem Fließmittel wassergesättigter Tetrachlorkohlenstoff-Petroläther (4:1). Man läßt 40—50 cm laufen, was etwa 4—6 Std erfordert und schneidet den Streifen nach dem Trocknen in 2 Teile. Diejenige Hälfte, die das reine Vitamin und einen Flecken der zu untersuchenden Lösung enthält, dient zur Lokalisierung des Vitamins mit Hilfe einer 50%igen $SbCl_3$-Lösung. Aus der unentwickelten Hälfte schneidet man dann die entsprechenden Vierecke aus, ebenso aus dem Kontrollstreifen. Die ausgeschnittenen Papierstücke werden nach Zerkleinern mit der Schere mit 10 ml Chloroform extrahiert. Nach Abdampfen des Chloroforms versetzt man den Rückstand mit 1 ml Chloroform, 6 ml 22%iger $SbCl_3$-Lösung und 3 Tr. Essigsäureanhydrid. Man mißt die Extinktion nach 4 min bei 500 mμ und zieht davon die Extinktion des Kontrollstreifens ab. Der Gehalt an Mikrongramm Vitamin D je Milliliter Blutserum berechnet sich zu $E \times 10^4/(1800 \times 2{,}5)$, wo E die Extinktion nach Abzug des Blindwertes ist.

[1] Nahrung 2, 358—361 (1958). A. N. Bach-Inst. Biochem., Akad. Wiss. Moskau (UdSSR). L. Acker

Über den Ferrohämoglobin-Löslichkeitstest und seine Genauigkeit, sowie über Werte in Anwesenheit abnormaler Hämoglobine berichtet C. A. J. Goldberg[1], der die niedrige Löslichkeit von reduziertem Hämoglobin S in konz. Phosphatpuffer dazu benutzt, dieses von Hämoglobin D zu trennen. Es wird festgestellt, daß die Menge des gelösten Hämoglobins und die Versuchstemperatur keinen Einfluß auf die Genauigkeit der Bestimmung haben. Die Ferrohämoglobinlöslichkeiten für

normales Hämoglobin, sowie für die Hämoglobine A—S, S—F, S—C, A—C, A—D, A—J, A—L, A—I und C werden angegeben. — *Ausführung* (vgl. auch[2]). 21,7 g Dikaliumhydrogenphosphat (K_2HPO_4) und 16,9 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH_2PO_4) werden in kohlensäurefreiem Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt. 1,8 ml dieses 2,8 m Puffers werden mit 20 mg Natriumdithionit ($Na_2S_2O_4$) und 0,2 ml gepuffertem Hämolysat versetzt. Nach 15 min wird durch Whatman Nr. 5 filtriert. 0,2 ml des Filtrates werden zu 3,8 ml desselben Puffers, der 20 mg Natriumdithionit enthält gegeben und die Extinktion gemessen (415 mμ). Daneben wird die Extinktion einer Probe, die 0,1 ml Hämolysat in 20 ml Wasser enthält, bestimmt. Aus dem Extinktionsverhältnis wird die Löslichkeit errechnet.

[1] Clin. Chemistry **4**, 146—149 (1958). Univ. Philadelphia, Pa. (USA). — [2] Goldberg, C. A. J.: Clin. Chemistry **3**, 1 (1957); vgl. diese Z. **161**, 156 (1958).

Ursula Baumann

Die elektrophoretische Analyse des menschlichen Hämoglobins gestattet nach E. M. Shooter, E. R. Skinner und J. C. White[1] keine eindeutige Identifizierung der Komponenten, da deren Wanderung nicht allein von den Versuchsbedingungen, sondern auch von ihrem Mischungsverhältnis abhängig ist. Es wird deshalb vorgeschlagen, zu den natürlichen bekannte Testgemische aus je 3 Hämoglobinkomponenten zuzugeben und sie im Phosphatpuffer (p_H 6,40, Ionenstärke 0,04) elektrophoretisch zu trennen. Auf diese Art wurde ermittelt, daß die Wanderungsgeschwindigkeiten der Hämoglobine in folgender Reihe abnehmen: C > E > S > G > A > J, während H zur anderen Seite wandert.

[1] Biochemic. J. **69**, 27p—28p (1958). Univ. College und Postgraduate Med. School, London (England).

Ursula Baumann

Eine rasche Mikromethode zur photometrischen Bilirubinbestimmung im Capillarblut von Neugeborenen hat D. Rothenberger[1] in Anlehnung an die Arbeit von D. Y.-Y. Hsia, H.-H. Hsia und S. S. Gellis[2] ausgearbeitet. — *Ausführung.* Zur Blutentnahme wird an der im Wasserbad vorgewärmten Ferse des Neugeborenen ein tiefer Schnepperstich angebracht. Mit einer Quickpipette (Mikromethode nach Fiechter) wird 0,015 ml 0,1 m Natriumoxalatlösung und bis zur Marke bei 0,15 ml Blut aufgezogen, anschließend in eine Uhrglasschale ausgeblasen und gut gemischt. (In der Regel kann 2—3 mal an der gleichen Stichstelle Blut entnommen werden.) Das erhaltene Oxalatblut wird mit einer U-Glascapillare (Länge 8—10 cm, innerer ⌀ 3 mm) aufgesogen und 5 min bei 2500 U/min zentrifugiert. An der Trennungsstelle zwischen Blutkörperchen und Plasma wird dann die Capillare abgebrochen und das Plasma in eine Uhrglasschale ausgeblasen. Man verdünnt 0,1 ml der Plasmaprobe mit 0,9 ml physiologischer Kochsalzlösung, versetzt 0,5 ml der erhaltenen Testlösung mit 0,2 ml täglich frisch bereitetem Diazoreagens (siehe unten) und 0,6 ml abs. Methanol, läßt das Reaktionsgemisch 30 min stehen, stellt das Instrument (ein photoelektrisches Colorimeter mit Mikroküvetten) mit dem Leerversuch [ein Gemisch aus 0,5 ml der Testlösung, 0,2 ml verd. Salzsäure (15 ml konz. Säure/Liter) und 0,6 ml absolutem Methanol] bei 540 μ auf 100% Durchlässigkeit ein und mißt die Extinktion der erhaltenen Farblösung. Das Gesamtbilirubin X (mg/100 ml Plasma) erhält man dann nach folgender Gleichung: $X = 100 \cdot (2 - \log g)/3$; (g = Galvanometerablesung). — *Diazoreagens.* 10,0 ml einer salzsauren Sulfanilsäurelösung (man löst 1,0 g des Reagenses in 1 l Wasser, das mit 15 ml konz. Salzsäure angesäuert ist) werden mit 0,3 ml 0,5%iger Natriumnitritlösung versetzt.

[1] Röntgen-Laborat.-Praxis **11**, L 139—L 142 (1958). Zürich (Schweiz). — [2] J. Lab. clin. Med. **40**, 610 (1952); vgl. diese Z. **143**, 399 (1954).

K. Machner

Zur fluorimetrischen Bestimmung von Kynurensäure (KS) und Xanthurensäure (XS) aus menschlichem Urin isolieren K. SATOH und J. M. PRICE[1] die Stoffe zunächst mit Hilfe der Chromatographie. — *Arbeitsweise.* Man bringt in ein Glasrohr von 15 cm Länge und 1,2 cm Außendurchmesser, das an seinem unteren Ende eine Verengung trägt, einen Bausch Glaswolle, schichtet auf diesen eine 3 cm hohe Säule von Dowex 50 (H^+) und wäscht diese mit 50 ml 5 n Salzsäure und anschließend mit 100 ml Wasser. Dann verdünnt man 2—5% eines KS und XS enthaltenden 24 Std-Urins mit Wasser auf 120 ml, gibt 30 ml 1 n Salzsäure zu und läßt diese Mischung über die Dowex-Kolonne laufen. Nach Durchspülen mit 50 ml 0,2 n Salzsäure, 100 ml 0,5 n Salzsäure und 20 ml Wasser eluiert man beide Säuren mit 396 ml Wasser und fügt dem Eluat 4 ml 0,5 m Phosphatpuffer (p_H 7,4) zu. — *KS-Bestimmung.* Man füllt 1—6 ml dieses Eluates mit 0,005 m Phosphatpuffer (p_H 7,4) auf 6 ml auf, versetzt mit 4 ml konz. Schwefelsäure und ermittelt nach 1stündigem Stehen die Fluorescenz dieser Mischung bei 435 mμ, indem man durch Bestrahlen mit Licht von 340 mμ aktiviert. Als Vergleich dient eine $8{,}05 \cdot 10^{-7}$ m Standard-KS-Lösung, die man durch Verdünnen von 1 ml $3{,}22 \cdot 10^{-3}$ m KS-Lösung mit 0,005 m Phosphatpuffer auf 400 ml erhält. — *XS-Bestimmung.* 0,1—5 ml des Eluates bringt man mit 0,005 m Phosphatpuffer auf 5 ml, fügt 5 ml gesätt. wäßrige Natronlauge zu und bestimmt nach 5 min langem Zentrifugieren und 1stündigem Stehen unter Aktivierung mit Licht von 370 mμ die Fluorescenz bei 530 mμ. Die Fluorescenzen von Schwefelsäure und Natronlauge müssen als Blindwert ermittelt werden (Photos der Fluorescenzspektren von KS und XS im Original). 90 und 105% der zugesetzten KS- bzw. XS-Mengen werden wiedergefunden.

[1] J. biol. Chemistry **230**, 781—789 (1958). Cancer Res. Hosp., Med. School, Univ. Madison, Wisc. (USA). K. SÖLLNER

Quantitative Bestimmung von Xanthin- (I) und Harnsäurederivaten (II). Zur *Bestimmung in Plasma* werden nach F. BERGMANN, S. DIKSTEIN und M. CHAIMOVITZ[1] I und II von den anwesenden Proteinen mit Quecksilber(II)-chlorid in saurer Lösung abgetrennt, wobei die Proteine ausfallen. I wird von II durch einen Kationenaustauscher getrennt, da I basisch reagiert. Eine weitere Trennung innerhalb der Gruppen I bzw. II in einzelne Komponenten wird durch Papierchromatographie erreicht. Die einzelnen Komponenten werden spektralphotometrisch im Bereiche von 250—320 mμ bestimmt. — *Arbeitsweise.* 1 ml Plasma wird mit 9 ml 0,1 n Salzsäure verdünnt. Dann fügt man tropfenweise 2 ml 10%ige Quecksilber(II)-chloridlösung in 0,1 n Salzsäure hinzu, erhitzt 5 min am Wasserbad und kühlt auf 0° C ab. Die ausgefällte Protein-Hg-Verbindung wird durch Whatman-Filter Nr. 40 abgetrennt und 2 mal mit je 10 ml 1%iger $HgCl_2$-Lösung ausgewaschen. Das Filtrat wird 20 min mit Schwefelwasserstoff gesättigt, wobei HgS ausfällt. Dieses wird abfiltriert und mit 2 ml warmer 0,1 n Salzsäure gewaschen. Zur Entfernung von H_2S kocht man 5 min. Dann stellt man den p_H-Wert der Lösung auf 1 ein und engt im Vakuum ein. Diese Lösung wird durch eine Austauscherkolonne (100×6 mm; Dowex 50-X-4 in der H^+-Form) geschickt. Man eluiert zuerst mit 10 ml 0,05 n Salzsäure. Das Eluat enthält II und wird im Vakuum eingedampft. Der Trockenrückstand wird mit 1 ml Lithiumcarbonatlösung extrahiert. 0,05 bis 0,5 ml des Extraktes werden auf einem Papierbogen in 3—10 cm Länge aufgetragen. Hierauf entwickelt man mit Äthanol-Pyridin-Wasser (70:20:10) 12 Std. Anschließend wird 4—6 Std senkrecht dazu mit Äthanol-Wasser-Essigsäure (85:10:5) entwickelt. Man trocknet an der Luft, schneidet parallel zur Startlinie Streifen von 2—3 cm Breite und eluiert jeden Streifen mit 8 ml 0,05 m Boraxlösung 90 min lang. Nach Filtration wird jeder Extrakt bei der Wellenlänge der einzelnen Komponenten photometriert. Zur Elution der Gruppe I (Xanthinderivate) wird die Austauschersäule

6mal mit je 20 ml 10%igem Ammoniak behandelt. Das Eluat wird im Vakuum eingedampft, in 1 ml Lithiumcarbonatlösung aufgenommen und zur Auftrennung in einzelne Komponenten eindimensional mit Äthanol-Wasser-Essigsäure (85:10:5) chromatographiert. Die Bestimmung erfolgt nach Elution der Flecken photometrisch.

S. Dikstein, F. Bergmann und M. Chaimowitz[2] berichten über die Bestimmung von I und II *in Urin*. Bei Urinproben tritt trotz papierchromatographischer Auftrennung eine Störung der spektralphotometrischen Bestimmung ein. Zur Ausschaltung dieser Störung empfehlen die Verff., I und II zunächst an einem Ionenaustauscher, der mit Hg^{2+}-Ionen beladen ist, zu adsorbieren, wobei die störenden Stoffe durchwandern. Hierauf werden I und II mit Salzsäure eluiert und wie bei Plasmaproben aufgetrennt. — *Arbeitsweise*. 1—2 ml Urin werden 1:5 oder 1:10 mit Wasser verdünnt, auf p_H 5—7 gebracht und auf eine Kolonne von 100×6 mm, die mit Dowex 50 in der Hg^{++}-Form beschickt ist, aufgetropft. Zur Herstellung der Kolonnenfüllung wird Dowex 50 (H^+) mit 6% Ammoniak, 3 n Salzsäure und Wasser gewaschen. Dann wird es mit einer 10%igen Lösung von Quecksilber(II)-acetat, der einige Tropfen Essigsäure zugesetzt sind, behandelt. Nach dem Auftropfen der Probe wäscht man mit 10 ml Wasser nach, wobei die störenden Stoffe ausgespült werden. Hierauf werden I und II mit 50 ml 3 n Salzsäure eluiert. Das Eluat wird 30 min mit H_2S gesättigt und vom ausgefällten HgS abgetrennt. Zur Entfernung von H_2S kocht man 5 min und führt anschließend die Trennung der Gruppen I und II an Dowex 50 (H^+) durch (s. oben).

[1] J. biol. Chemistry **230**, 193—201 (1958). Hebrew Univ., Hadassah Med. School, Jerusalem (Israel). — [2] J. biol. Chemistry **230**, 203—211 (1958).

G. Kainz

Der Nachweis von Pyrimidindesoxyribosiden und Desoxyribotiden auf Papierchromatogrammen mit Diphenylamin[1] wird nach J. Jonsen, L. Haavaldsen und S. Laland[2] durch Bromierung um das 4fache empfindlicher. Nachgewiesen werden *Desoxycytidylsäure, Desoxycytidin, Thymidylsäure, Thymidin* und *Desoxyuridin*. — *Ausführung*. Das trockene Chromatogramm wird auf eine Glasplatte gelegt und vorsichtig mit einem Brom-Wasser-Essigsäuregemisch (1:50:10) betupft, wobei das Papier nicht zu naß werden soll. Der Streifen wird zwischen 2 Glasplatten 5 min auf 100° C erhitzt und dann wie üblich mit Diphenylamin-Schwefelsäure besprüht.

[1] Buchanan, J. G., C. A. Dekker u. A. G. Long: J. chem. Soc. (London); **1950**, 3162; vgl. diese Z. **143**, 373 (1954). — [2] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 291 1958). Univ. Oslo, Blindern (Norwegen).

Ursula Baumann

Eine Methode zur Trennung von Nucleotiden an Austauschersäulen mit konkavem Elutionsgradienten geben H. G. Pontis und N. L. Blumson[1] an. Es handelt sich um eine Modifikation des Verfahrens vom R. M. Bock und N.-S. Ling[2]. Die Elution erfolgt mit Calciumchlorid. Das hat nach Gefriertrocknung der Eluate den Vorteil, daß man die Calciumsalze der Nucleotide von überschüssigem Calciumchlorid durch Aufnehmen in den absoluten Alkohol/Äther (1:1) trennt, worin nur das Chlorid löslich ist. Zur Auftrennung gelangen bekannte Gemische der *Mono-, Di- und Triphosphatide von Adenosin, Guanosin, Uridin, Cytidin, Diphosphopyridinnucleotid, Uridindiphosphatglucose, Uridindiphosphatacetylglucosamin* und *Guanosindiphosphatmannose*. — *Ausführung*. Die Chloridform von Dowex (1, 2 oder 4% Vernetzung) wäscht man durch Dekantieren und teilt in einem 2 l Becherglas durch Sedimentation in 5, 10, 15 und 20 min-Fraktionen. Dann wäscht man 2mal alternierend mit 1 n Natronlauge und 1 n Salzsäure und schließlich mit Wasser

bis auf $p_H > 5$. Ein Rohr von 1×120 cm füllt man 100 cm hoch nacheinander mit der 5, 10, 15 und 20 min-Fraktion. Man gibt die auf p_H 7,5 eingestellte Nucleotidlösung auf und wäscht mit Wasser. Für die Elution enthält das Mischgefäß (A_1) 5 l 0,0001 n Salzsäure und das Vorratsgefäß (A_2) 3 l 0,15 n Calciumchlorid in 0,01 n Salzsäure. Den günstigsten konkaven Gradienten erhält man, wenn man das Verhältnis von A_2/A_1 auf 0,6 einstellt. Den Durchfluß stellt man mit Luftdruck auf 0,5 ml/min ein und sammelt in 10 ml-Fraktionen. Dabei fällt der p_H-Wert von ~ 4 auf ~ 2, während die Chloridkonzentration von $< 0{,}02$ auf $> 0{,}14$ steigt. Die zusammengehörenden Fraktionen bringt man mit Calciumhydroxyd auf p_H 7, engt im Vakuum ein und gefriertrocknet. Den Trockenrückstand nimmt man in Alkohol/Äther auf, läßt über Nacht bei Tiefkühlung stehen, zentrifugiert, wäscht 2mal mit Alkohol/Äther und 2mal mit Äther und trocknet im Exsiccator. Den in Wasser suspendierten Rückstand setzt man mit Ammoniumoxalat um und erhält so calciumfreie Lösungen, die man analysieren kann.

[1] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **27**, 618—624 (1958). — [2] Analyt. Chemistry **26**, 1543 (1954); vgl. diese Z. **147**, 40 (1955). E. Müller, Würzburg

Eine Methode zur quantitativen photometrischen Bestimmung der Adeninnucleotide im Blut entwickelt G. Vogel[1]. *Adenosinmono-, -di- und -triphosphat* werden nach papierchromatographischer Trennung direkt auf dem Chromatogramm bestimmt. Zum Vergleich wurden Analysen nach der Orcinmethode durchgeführt. Die Gesamtadenylsäuren sind im Blut von Männern höher als bei Frauen, während das Verhältnis ATP/ADP/AMP keine Unterschiede zeigt. Bei pathologischen Fällen ist bei gleichbleibender AMP ADP leicht erhöht, ATP stark verringert. — *Ausführung.* 5 ml venöses Blut werden in 5 ml eiskalte, 10%ige Trichloressigsäure gespritzt, umgeschüttelt und 1 Std bei 0° C stehen gelassen. Danach wird 10 min mit 3000 U/min zentrifugiert und die überstehende Lösung auf Schl. & Sch.-Papier 2045b Gl mit Isobutanol-Isopropanol-Aceton-30%iger Ameisensäure (20:20:40:60) 24 Std bei Zimmertemperatur aufsteigend chromatographiert. Da größere Mengen Untersuchungslösung aufgetropft werden müssen, um zu den noch nachweisbaren Mindestmengen zu kommen, der Startfleck aber trotzdem klein gehalten werden soll, wird jeder Tropfen durch 2 Kaltluftgebläse angetrocknet, ehe der nächste aufgetragen wird. Das successive Auftragen erfolgt automatisch durch ein hierfür besonders entwickeltes Gerät. Nach Trocknen der Bogen wird nochmals mit demselben Lösungsmittel chromatographiert und erneut getrocknet. Die Chromatogramme werden in 3,5 cm breite Streifen geschnitten, aufgerollt und mit Paraffinum liquidum pro injectione „Merck" getränkt. Zur photometrischen Bestimmung wird ein Zeiss Spektralphotometer PMQ II verwendet (Wellenlänge 260 mμ, Spalthöhe 6 mm, Spaltbreite 1 mm). Der Flächeninhalt der erhaltenen Kurven wird planimetriert.

[1] Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmakol. **233**, 499—505 (1958). Kreiskrankenhaus Heidenheim/Brenz. Ursula Baumann

Die Trennung und Bestimmung der Nucleotide des Gehirns führt W. Koransky[1] an *Rattengehirnen* mit Hilfe der Austauscherchromatographie durch. Erfaßt werden alle säurelöslichen Nucleotide: (Mol/g Gehirn) *Adenosin* $3{,}8 \cdot 10^{-7}$, *Diphosphopyridinnucleotid* $1{,}9 \cdot 10^{-7}$, *Adenosinmonophosphat* $2{,}6 \cdot 10^{-6}$, *Adenosindiphosphat* $2{,}8 \cdot 10^{-6}$, *Adenosintriphosphat* $3{,}1 \cdot 10^{-6}$, *Guanosinmonophosphat* $4{,}2 \cdot 10^{-7}$, *Guanosindiphosphat* $1{,}0 \cdot 10^{-6}$, *Guanosintriphosphat* $1{,}2 \cdot 10^{-6}$, *Inosinmonophosphat* $4{,}1 \cdot 10^{-7}$, *Uridinmonophosphat* $2{,}8 \cdot 10^{-7}$, *Uridindiphosphat* $1{,}6 \cdot 10^{-7}$, *Uridindiphosphat-N-acetylglucosamin* $2{,}4 \cdot 10^{-7}$, *Uridindiphosphat-Glucose* $2{,}4 \cdot 10^{-7}$, *Uridintriphosphat* $3{,}5 \cdot 10^{-7}$, insgesamt $13{,}5 \cdot 10^{-6}$. Cytidin kann nicht nachgewiesen werden. —

Ausführung. Das Gehirn wird nach der Dekapitation der Tiere sofort in flüssige Luft gebracht, zermörsert und mit 1 n Perchlorsäure bei 0° C und 15000 U/min homogenisiert und extrahiert. Nach Zentrifugieren wird der Rückstand nochmals mit 0,5 n Perchlorsäure extrahiert, die vereinigten Extrakte unter Kühlung mit 5 n Kalilauge gegen Phenolphthalein neutralisiert, vom Kaliumperchlorat abzentrifugiert und die überstehende Lösung an Dowex 1 in der Formiatform chromatographiert. Die Elution der Substanzen erfolgt durch Ameisensäure steigender Konzentration, der nach und nach zunehmende Mengen Ammoniumformiat zugesetzt werden. Das Elutionsmittel wird durch motorgetriebene Spritzen mit gleichbleibender Geschwindigkeit zugefügt (20 ml Elutionsmittel/Std durch 1 cm^2 Säulenquerschnitt). Die erhaltenen 9 Fraktionen werden (zum Beweis ihrer Reinheit oder zur weiteren Auftrennung) erneut chromatographiert und mit Ammoniumformiatpuffer p_H 4—5, später p_H 3—4 eluiert. Die Ameisensäure wird aus den Eluaten durch Gefriertrocknung, das Ammoniumformiat zur Hauptsache durch Sublimation in der Gefriertrocknungsapparatur entfernt. Der dabei verbleibende Rückstand wird mit Wasser verdünnt und mit einem stark sauren Kationenaustauscher behandelt, bis kein NH_4^+ mehr nachweisbar ist. Der Austauscher wird mit Wasser eluiert und diese Lösung der Gefriertrocknung unterworfen. Empfindliche Nucleotide, die in geringer Konzentration vorliegen, können noch papierchromatographisch weiter gereinigt werden. Man verwendet hierzu nebeneinander (in manchen Fällen nacheinander) die Lösungsmittelsysteme Essigester-Pyridin-Wasser (2:1:2)[2] und Buttersäure-25%iges Ammoniak-Wasser (57:4:39)[3]. Die Nucleotide werden nach folgendem Prinzip identifiziert: Aufnahme der UV-Spektren in saurer und alkalischer Lösung; Bestimmung des Phosphates[4] nach Veraschung mit konz. Schwefelsäure und Perchlorsäure; Bestimmung der Ribose[5]; Nachweis der freien Basen nach Hydrolyse mit konz. Perchlorsäure bei 100° C, chromatographischer Trennung (zwischen Folien, auf Whatman Nr. 1, aufsteigend, zweidimensional, mit Isopropanol-35%iger Salzsäure-Wasser [170:41:39] in der einen Richtung und Butanol-25%igem Ammoniak [86:14] in der anderen) und Aufnahme der UV-Spektren in saurer und alkalischer Lösung (0,1 n Salzsäure und 0,1 n Natronlauge bei 220—300 mμ in einem Beckman-Spektralphotometer) nach Elution mit 0,1 n Salzsäure; Berechnung des Verhältnisses von Base: Ribose: Phosphat.

[1] Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **234**, 46—65 (1958). Freie Univ. Berlin. — [2] Jermyn, M. A., u. F. A. Isherwood: Biochemic. J. **44**, 402 (1949). — [3] Wyatt, G. R.: in Chargaff, E., u. J. N. Davidson: The Nucleic Acids, Vol. I, S. 254, Acad. Press, New York (1955). — [4] Berenblum, I., u. E. Chain: Biochemic. J. **32**, 295 (1938); vgl. diese Z. **124**, 60 (1942). — [5] Barnum, C. P., C. W. Nash, E. Jennings, O. Nygaard u. H. Vermund: Arch. Biochem. Biophysics **25**, 376 (1952). Ursula Baumann

Über die radiochromatographische Identifizierung von Phosphorsäureestern in der Hefe „*Torulopsis utilis*" berichtete J. K. Miettinen[1]. Die Umwandlung des Orthophosphates in Phosphorsäureester wurde mit Hilfe von $^{32}PO_4^{3-}$ und Trägerphosphat beobachtet. Die Assimilation fand unter starker Belüftung statt. Das gesamte Phosphat war in 30 min aufgenommen. Die Proben wurden mit Trichloressigsäure extrahiert und sowohl mit der zweidimensionalen Papierchromatographie als auch autoradiographisch untersucht. Nach 10 min konnten 10 verschiedene radioaktive Verbindungen in normaler Hefe festgestellt werden: Adenosin-5′-diphosphat (ADP) in starker Konzentration, Adenosin-5′-phosphat (AMP) und Adenosin-5′-triphosphat (ATP) in mäßiger Konzentration, weiterhin in schwacher Konzentration Uridin-5′-diphosphat (UDP), Uridindiphosphoglucose (UDPG), Guanosin-5′-triphosphat (GTP), 3-Phosphoglycerinsäure (3-PGS) und 3

nicht identifizierbare Verbindungen. Die Konzentration der einzelnen Substanzen änderten sich mit der Zeit. So waren z. B. nach 30 min AMP, ADP und ATP in gleicher Intensität feststellbar. Nach 1—2 Std nahm die Konzentration der Adenosinphosphate in der Reihe AMP > ADP > ATP ab. — Die gute Auflösung bei den papierchromatographischen Untersuchungen wurde mit folgenden Lösungsmittelgemischen erreicht: 1. Dimension: tert.-Butanol-Ameisensäure (98%ig)-Wasser (8:3:4); 2. Dimension: n-Propanol-Ammoniak (25%ig)-Wasser (6:3:1).

[1] Suomen Kemistilehti, Ser. B, **31**, 235 (1958). Biochemic. Inst. Helsinki (Finnland). D. Jentzsch

Eine Methode zur schnellen Auflösung von Zellen für die Bestimmung von Gesamteiweiß und Nucleinsäuren in Gewebskulturen teilt E. Kovács[1] mit. — *Ausführung.* Man löst die Zellen nach Dekantieren des Mediums in gesättigter Harnstofflösung (HS) (1 g/ml Wasser bei 22° C), die 2% Desoxycholat (DC) enthält. Lösung tritt spätestens nach 15 min bei 22° C ein. Man verdünnt auf 50 oder 25% HS-DC und mißt die Absorption bei 2600—2800Å. In den konzentrierten oder verdünnten Lösungen kann man gegen Eiweiß- und Nucleinsäurestandardlösungen in HS-DC die Extinktion messen oder die Konzentration nach der Warburg-Christianischen Formel direkt berechnen[2]. Auch Gesamtphosphor und Phosphorfraktionsbestimmungen[2] können ausgeführt werden. Man kann HS und DC auch in Substanz zusetzen. Eiweißdenaturierung[3,4] und Nucleinsäuredepolymerisation[5] treten nicht ein.

[1] Naturwissenschaften **45**, 339 (1958). Lab. Stiftg. Erforschg. spin. Kinderlähmg. Mult. Sklerose; Hamburg-Eppendorf. — [2] Kalckar, H. M.: J. biol. Chemistry **167**, 461 (1947). — [3] Christensen, L. K.: Arch. Biochem. Biophysics **65**, 340 (1956). — [4] Perlmann, G. E.: Arch. Biochem. Biophysics **65**, 210 (1956). — [5] Edson, D.: Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **27**, 207, 217 (1958).
E. Müller, Würzburg

Mit der Methode zur Bestimmung von Ribonucleinsäure im Bereich unter Mikrogrammen von J.-E. Edström[1] können sowohl Ribonucleinsäure als auch ihre Bestandteile in Mengen von 25—1000 pg (z. B. Inhalt einer einzigen Zelle oder sogar Zellbestandteilen) quantitativ mit einem Fehler von ± 5% bestimmt werden. – *Ausführung.* Zellen aus frischem Gewebe werden vor der Extraktion der Ribonucleinsäure mit Perchlorsäure, Äthanol und Chloroform, Zellen aus fixiertem Gewebe mit „Carnoys Fixativ" (Äthanol-Chloroform-Eisessig 6:3:1) behandelt. Zur Extraktion wird das Gewebestück bzw. die Zelle mit etwa dem 4—5fachen Volumen einer Lösung von 0,4 mg kristallisierter Ribonuclease in 1 ml eines Phosphat- oder besser eines flüchtigen Puffers aus Ammoniumhydrogencarbonat-acetat vom p_H-Wert 7,6 in einer Ölkammer versetzt. Nach 1 Std ist die quantitative Extraktion (Zimmertemperatur) der Ribonucleinsäure beendet. Die Flüssigkeit wird mit einer Mikropipette ($\varnothing = 15\,\mu$) aufgenommen und kann nach 2 Methoden weiterverarbeitet werden: 1. Der Extrakt wird auf einen Cellophanstreifen ($40+25\,\mu$) aufgetragen und von diesem aufgesogen. Der Fleck kann direkt im UV-Licht photometriert werden (nachweisbar 100—1000 pg, Fehler ± 5%). 2. Der Extrakt wird auf Quarzglas eingetrocknet und unter flüssigem Paraffin in einem Glycerin enthaltenden Puffer gelöst. Die runden Flecke können direkt photometriert werden. Die Empfindlichkeit ist bei dieser Methode höher (25—5000 pg). Außerdem können die Proben auch zur Elektrophorese weiter benutzt werden. — *Elektrophorese.* Dazu werden die Extrakte mit 1 n Salzsäure bei 26° C 18 Std zu den freien Mononucleotiden oder mit 3,3 n Salzsäure bei 43° C 24 Std bis zu den Purin- und Pyrimidinbasen hydrolysiert. Die Elektrophorese wird auf einem Kunstseidenfaden von 8 μ Dicke durchgeführt, der durch Behandlung mit Alkali auf 20 μ

quillt. Dieser Faden wird mit der sehr viscosen Pufferlösung, die Glycerin oder hitzebehandelte Glucose enthält, getränkt. Da ein konstanter Wassergehalt notwendig ist, wird entweder die Luftfeuchtigkeit konstant gehalten oder der Faden solange erwärmt, bis die gewünschte Leitfähigkeit erreicht ist. Bei einem Spannungsgefälle von 2—6000 V/cm ist die Trennung der Basen in $^1/_2$ Std beendet. Diese werden im UV entweder direkt photometriert oder mit Licht von 257 mμ photographiert und die Pherogramme ausphotometriert. Untersucht werden in der Hauptsache Nervenzellen. Da die Methode außerordentlich subtil ist, empfiehlt sich das Studium der Originalarbeit, die auch Abbildungen der verwendeten Apparaturen enthält.

[1] Microchemical J. 2, 71—82 (1958). Dep. Histol. Göteborg (Schweden).

Ursula Baumann

Eine Methode zur fluorimetrischen Bestimmung von Desoxyribonucleinsäure (DRNS) in tierischen Geweben unter besonderer Berücksichtigung des Zentralnervensystems geben J. M. Kissane und E. Robins[1] an. Das Verfahren macht sich die Tatsache zu Nutze, daß Aldehyde vom Typ $R \cdot CH_2 \cdot CHO$, bei denen in α-Stellung keine Substitution erfolgt sein darf, mit 3,5-Diaminobenzosäuredihydrochlorid(I) ein stark fluorescierendes Reaktionsprodukt ergeben. Durch selektives Abtrennen der DRNS ist Störung durch andere Aldehyde ausgeschaltet. Die Methode besitzt somit eine hohe Spezifität für DRNS und spricht nicht auf Ribonucleinsäure an. Es lassen sich noch 2,4 mμg DRNS in 50 μl-Proben bestimmen, das entspricht Gehirn-Gefriertrockenproben von 0,2—3 μg. — *Ausführung.* Gefriertrockenschnitte oder 2,5 μl Gehirnhomogenat, die 10—100 μg Frischgewicht entsprechen, gibt man in Spitzgläser mit einem Innendurchmesser von 2,5 mm, die in Eiswasser stehen. Die Schnitte versetzt man mit 5 μl kalter 0,3 n Trichloressigsäure (TCE), die Homogenate mit 2,5 μl 0,6 n TCE. Für Blind- und Standardbestimmungen gibt man 5 μl 0,3 n TCE in leere Gläschen. Proben und Blindansatz werden gleichermaßen behandelt: Man zentrifugiert 5—10 min bei 2000 U/min und verwirft 4 μl vom Überstand. Zur Fettextraktion läßt man 5 bis 10 min mit 10 μl 0,1 n alkoholischer Kaliumacetatlösung stehen und zentrifugiert abermals. 8 oder 9 μl Überstand werden verworfen (oder zu Fettbestimmungen benutzt). Dann wiederholt man das Ganze mit je 10 μl abs. Alkohol 2mal, wobei man das erste Mal 15 min mit Parafilm bedeckt bei 60° C stehen läßt. Nach Trocknen im Exsiccator pipettiert man in die Blindwertröhrchen je 1 μl 1 n Ammoniak und in die Standardansätze je 1 μl mit 10, 20, 40 und 80 mμg DRNS/μl. In jedes Röhrchen gibt man unter heftigem Schütteln 1 μl frisch bereitete 2 m I-Lösung, verschließt gut mit Gummistopfen und erhitzt 30 min in einem seichten Wasserbad auf 60° C. Jedes Gläschen versetzt man mit 20 μl 0,6 n Perchlorsäure, mischt und entnimmt 16 μl für die Mikro-Fluorimeterküvette, in der sich 35 μl 0,6 n Perchlorsäure befinden. Das einstrahlende Licht hat eine Wellenlänge von 405—408 mμ, man mißt die Fluorescenz bei 520 mμ. Die fluorescierende Lösung ist nur 2 Std stabil. Bei 50 bis maximal 6400 mμg DRNS (0,124—15,8 mM DRNS-Phosphor) nimmt man die Bestimmung in 1 ml-Küvetten vor, indem man das Volumen jeder Extraktion verdoppelt, die I-Menge auf 5—15 μl steigert und schließlich in Küvetten einfüllt, die 1,0 ml 0,6 n Perchlorsäure enthalten.

[1] J. biol. Chemistry 233, 184—188 (1958). Univ. School Med., St. Louis, Mo. (USA).

E. Müller, Würzburg

Über die Bestimmung von Desoxyribonucleinsäure (DRNS) in Wurzelspitzen vor und nach Kälteeinwirkung berichten J. K. Heyes und G. W. Shaw[1]. In den Wurzelspitzen von Vicia faba, Trillium erectum und Paris polyphylla wird nach

3—4tägigem Verweilen bei 5 bzw. 0° C der Gehalt an DRNS bestimmt indem nach Fällen der DRNS der Gehalt des Niederschlages an Phosphor, Zucker und Basen ermittelt wird. Es ergibt sich eine signifikante Erhöhung der DRNS nach Kälteeinwirkung gegenüber den Kontrollen. In Bestätigung anderer Autoren erhält man mit der Auswertung der Farbreaktion nach FEULGEN bis zu 25% erniedrigte Werte. Die Diskrepanz der beiden Bestimmungsmethoden wird diskutiert.

[1] Nature (London) **181**, 1337—1338 (1958). E. MÜLLER, Würzburg

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Ribonuclease gibt J. C. HOUCK[1] an. Sie beruht auf der Messung der mit Gelatine stabilisierten Trübung bei 400 mμ, die Ribonucleinsäure (RNS) mit Serumalbumin gibt. Die Abnahme dieser Trübung nach Einwirkung von Ribonuclease (RN-ase) ist ein Maß für die RN-ase-Aktivität. Es lassen sich so Mengen bestimmen, die 1—50 mμg kristallisierter RN-ase entsprechen. Die Methode ist relativ unempfindlich gegen Verunreinigungen. — *Ausführung.* Man stellt eine Lösung mit 0,13 (%iger Ref.) Natriumchloridlösung her, die 0,02 m Dinatriumphosphat und 400—600 μg RNS/ml enthält ($p_H \sim 7{,}6$). 1 ml dieser Lösung versetzt man zur Erzeugung der Trübung mit 5 ml einer Lösung, die in 0,10 m Acetatpuffer von p_H 4,0 0,3 mg/ml Serumalbumin und 1 mg/ml Gelatine enthält. Die Trübung mißt man in einer 105×15 mm-Küvette bei 400 mμ (Coleman jr.-Spektrophotometer). 0,5 ml-Anteile der zu untersuchenden Lösung mit je 500 μg RNS mischt man mit je 0,5 ml der Phosphat-Natriumchloridlösung, die 10, 20 und 50 m μg Pankreas-RN-ase enthalten und inkubiert bei 37° C für 0—30 min. Nach Zusatz der die Trübung erzeugenden Lösung mißt man die Extinktion und stellt eine Kurve auf. Die Differenz zwischen dem gefundenen und dem Anfangswert (500 μg) wird als depolymerisiertes Substrat (S_d) bezeichnet. S_d trägt man gegen die Inkubationszeit auf. 30 min sollte die Standardzeit sein. Aus der Kurve läßt sich die gesuchte RN-ase entnehmen.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **73**, 384—390 (1958). Georgetown Univ. Hosp., Washington, D. C. (USA). E. MÜLLER, Würzburg

Einen Esterase-Nachweis auf dem Chromatogramm führt H. F. LINSKENS[1] mit Indoxylbutyrat durch. Das noch feuchte Chromatogramm wird nach entsprechender Aufarbeitung[2] mit einer 1%igen Lösung von Indoxylbutyrat in Aceton besprüht. Nach 48 Std Bebrüten in einer feuchten Kammer von 38° C zeigen sich an den fermentaktiven Stellen blaue Streifen (Indigoblau).

[1] J. Chromatogr. (Amsterdam) **1**, 202 (1958). Botan. Lab., Univ. Nijmegen (Holland). — [2] LINSKENS, H. F.: Enzyme, in: Papierchromatographie in der Botanik, S. 135—142, Springer-Verlag 1955. URSULA BAUMANN

Zur Bestimmung der Serumtransaminase in Glutamin-Oxalessigsäure und Glutamin-Brenztraubensäure empfiehlt M. ŠEVELA[1] die einfache, rasche und für Routinebestimmungen sehr vorteilhafte Methode von S. REITMAN und S. FRANKEL[2]. Das Substrat wird mit dem Reagens (0,0198 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 ml 1 n Salzsäure) behandelt, nach gewisser Inkubationszeit wird 0,4 n Natronlauge zugesetzt und nach $^1/_2$ Std die Extinktion bei 505 mμ gemessen. Die Bedingungen für die Durchführung der Bestimmung (Verdünnung der Sera, Herstellung der Standards, Eichkurve, Inkubationszeit, Stabilität der Farbe der Hydrazone) werden genau untersucht. Die Analysenergebnisse stimmen sehr gut mit den elektrophoretisch erhaltenen Zahlen überein.

[1] Vnitřní Lékařství **4**, 721—729 (1958) [Tschechisch]. (Mit russ. u. engl. Zus.fass.) Univ. Brno (Brünn) (ČSR). — [2] Amer. J. clin. Pathol. **28**, 56 (1957). Z. STEJSKAL

Über die elektrophoretische Trennung und Klassifizierung von Blutplasmaesterasen berichtet K.-B. Augustinsson[1]. Mit der Elektrophorese von Stärkesäulen nach P. Flodin und D. W. Kupke[2] erhält man 3 verschiedene Gruppen von Esterasen, statt wie bisher 2 (A und B) mit folgenden Eigenschaften. A-Esterasen (Arylesterasen): typische aromatische Esterasen, die Phenylacetat stärker hydrolysieren als Phenylbutyrat und aliphatische Ester normalerweise nicht spalten. Sie wandern am schnellsten, nahe bei oder mit Albumin. Organophosphorverbindungen und Physostigmin hemmen nicht. B-Esterasen (aliphatische Esterasen, Lipasen): aliphatische und aromatische Acetyl-, Propionyl- und Butyrylester werden hydrolysiert, nicht aber Cholinester. Sie wandern mit oder neben der α_1-Fraktion. Organophosphorverbindungen hemmen, 10^{-5} m Physostigmin ist ohne Wirkung. C-Esterasen (Cholinesterasen): Cholinester werden schneller als aliphatische und aromatische Ester hydrolysiert. Sie wandern am langsamsten. Organophosphorverbindungen hemmen, und 10^{-5} m und weniger Physostigmin haben 100%ige Hemmwirkung. Bei Mensch und Hund kommen nur A und C vor, bei einer Reihe von Tieren (Warmblüter und Fische) alle drei, bei anderen Fischen B und C und bei einem Rundmäuler (Myxine glutinosa) nur B. Die Esteraktivität wird mit der Warburg-Apparatur bestimmt. Die Ergebnisse sind in Kurven und einer graphischen Darstellung zusammengestellt.

[1] Nature (London) **181**, 1786—1789 (1958). Univ. Stockholm (Schweden). — [2] Biochim. biophysica Acta **21**, 368 (1956). E. Müller, Würzburg

Über den Nachweis der Katalase- und Peroxydaseaktivität des Hämoglobins nach Elektrophorese auf Agargel berichtet J. Uriel[1]. 30—35%ige Hämoglobinlösungen werden auf das 10—100fache verdünnt und der Elektrophorese in Agargel nach P. Grabar und C. H. Williams[2] unterworfen. Zum Nachweis der Katalaseaktivität des Hämoglobins wirft man entsprechende ausgeschnittene Stückchen für 10—15 min in eine 0,1 m Wasserstoffperoxydlösung. Es bilden sich auch im Inneren des Agarstückes O_2-Bläschen. Für den Nachweis der Peroxydaseaktivität des Hämoglobins fixiert man die ausgeschnittenen Stücke in einer gesätt. Zinkacetatlösung in 50%igem Äthanol. Dann wässert man 2mal je 2 Std und trocknet bei 37° C[3]. Hierauf wirft man die Stücke in eine frisch bereitete Lösung aus 50 ml 0,01 m α-Naphthol + 50 ml 0,01 m p-Phenylendiamin in McIlvaine-Pufferlösung, p_H 6,5, + 10 ml 0,1 m Natriumazidlösung + 10 ml 10%iges Wasserstoffperoxyd. Nach 10—15 min ist die (NADI)-Reaktion positiv, und man wäscht unter fließendem Wasser. Katalase würde die Peroxydase hemmen. Um diese Wirkung auszuschalten, wird Natriumazid zur Unterdrückung der Katalaseaktivität zugesetzt.

[1] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **40**, 277—280 (1958). — [2] Biochim. biophysica Acta **10**, 193 (1953); **17**, 67 (1955). — [3] Uriel, J., u. J. J. Scheidegger: Bull. Soc. Chim. biol. **37**, 165 (1955). E. Müller, Würzburg

Die colorimetrische Bestimmung der Lipase im Urin beschreiben M. M. Nachlas und R. Blackburn[1]. Die Methode beruht darauf, daß 1. Natriumtaurocholat die Aktivität der Esterase hemmt und die der Lipase fördert, wodurch eine Bestimmung beider Enzyme nebeneinander möglich wird und daß 2. bei Verwendung eines β-Naphthylesters (am besten Caprylat) als Substrat das freiwerdende β-Naphthol mit einem Diazoniumsalz zu einem Diazofarbstoff umgesetzt werden kann, den man extrahiert und colorimetrisch bestimmt. Schon bei früheren Lipasebestimmungen erwies sich die Anwesenheit einer Antilipase im biologischen Material als störend. Diese kann durch Dialyse entfernt werden, bleibt aber beim Eindampfen von frischem Urin auf $^1/_{10}$ des Volumens erhalten. — *Arbeitsweise.* Je 0,1 ml Urin gibt man in 4 Proberöhren, von denen 2 je 1 ml 0,08 m Natriumtaurocholatlösung (890 mg in 100 ml Wasser; bei 4° C 2 Monate haltbar), die

anderen beiden je 1 ml Wasser enthalten. Nach 5—10 min setzt man 5 ml frisch bereitetes Substrat-Puffergemisch (siehe unten) zu. Blindproben ohne Enzym werden genau so angesetzt. Dann beläßt man 3 Std bei 37° C, fügt anschließend 1 ml frisch hergestellte wäßrige Lösung von tetrazotiertem Diorthoanisidin (Naphthanildiazoblau B von E.I. du Pont de Nemours) (4 mg/ml) sowie nach 2—3 min 1 ml 40%ige Trichloressigsäure zu und extrahiert den sich bildenden Farbstoff mit 10 ml Äthylacetat, indem man zunächst ausschüttelt und dann 10 min bei 2000 U/min zentrifugiert. 5 ml der gefärbten Lösung verwendet man zur Extinktionsmessung in einem Klett-Summerson-Colorimeter mit einem 540 mμ-Filter. — *Substratlösung.* 2 mg β-Naphthylcaprylat/Milliliter Aceton, bei 4° C mehrere Monate haltbar. *Pufferlösung* (0,1 m Veronalpuffer, p_H 7,4): 58 ml Natriumdiäthylbarbituratlösung (10,3 g/500 ml) + 42 ml 0,1 m Salzsäure, bei Aufbewahrung bei 4° C treten häufig Barbituratniederschläge auf, dies läßt sich durch Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser (auf 0,05 m) verhindern; ist dann über 1 Monat haltbar. *Substrat-Puffergemisch.* 5 ml Substratlösung werden in eine Lösung gegeben, die aus 40 ml Pufferlösung + 1 ml $2{,}7 \cdot 10^{-3}$ m Calciumchloridlösung + 54 ml Wasser besteht. Das Gemisch ist schwach getrübt und muß immer frisch bereitet werden.

[1] J. biol. Chemistry **230**, 1051—1061 (1958). Sinai Hosp. u. Univ. School Med., Baltimore, Md., und City Hosp. Boston, Mass. (USA). F. Schärtl

5. Toxikologische Analyse

Tabellen mit spektrophotometrischen Daten für 166 giftige organische Substanzen, 25 Pflanzenbasen und 4 menschliche Stoffwechselprodukte geben L. W. Bradford und J. W. Brackett[1] bekannt. Die Angaben der Wellenlängen maximaler UV-Absorption dieser Stoffe ermöglichen einen *systematischen Trennungsgang für forensische Zwecke*, während eine weitere Tabelle Stoffe enthält, deren UV-Absorptionsspektren sich verändern, wenn Änderungen des p_H-Wertes ihrer Lösungen auftreten.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 353—382. Lab. of Criminalistics, San José, Calif. (USA). K. Söllner

Einen kurzen Überblick über die chromatographischen Methoden in ihrer Bedeutung für die forensische Chemie gibt A. J. McBay[1]. Neben der Trennung und Identifizierung von *Alkaloiden* und *Antihistaminen* mit Hilfe chromatographischer Verfahren spielen diese Methoden bei Untersuchungen der Mischungen von *Barbitursäurederivaten* eine besondere Rolle. Diese Verfahren werden auch mit Erfolg angewendet bei der Untersuchung von *Tinten*, *Farbbändern* von Schreibmaschinen sowie bei der Identifizierung von *Ölen*, *Schmierstoffen* und *Lackproben* im Zusammenhang mit Autounfällen. — Ein ausführliches Literaturverzeichnis beschließt den Beitrag.

[1] J. forensic Sci. **3**, 364—369 (1958). B. Schühlein

Eine Methode zur toxikologischen Mikrobestimmung von Arsen durch Polarographie hat B. Cristau[1] beschrieben. In Abänderung der Methode nach G. P. Haight jr.[2] wird der Arsenwasserstoff aber nicht auf Silicagel, sondern auf ein mit Silbernitratlösung getränktes Papier geleitet. — *Vorschrift.* Zunächst wird die gegebenenfalls mit Wasser versetzte Probe (75 ml) in 60 ml 20%iger Schwefelsäure im Generator nach J. Cribier[3] mit etwas Kaliumpermanganat oxydiert, so daß nur fünfwertiges Arsen vorliegt. Der Permanganatüberschuß wird mit Wasserstoffperoxyd zerstört. Nach Zugabe von 8 g Zink läßt man die Gasentwicklung über Nacht laufen, das Gas über das Papier streichen (Arches Nr. 304 mit 5%iger Silbernitratlösung getränkt). Das durch Silberabscheidung als dunkle Färbung

kenntliche Papierstück enthält die arsenige Säure. Man zerschneidet das Stück in mehrere kleine Teile, die sofort im geschlossenen Kolben mit so viel Gemisch aus je 1 m Salzsäure und Weinsäure eluiert werden, daß die Arsenkonzentration unter 25 μg/ml liegt. Man behandelt 10 min im Wasserbad von 70—80° C, zentrifugiert nach Abkühlen und polarographiert die klare Lösung nach Behandeln mit Stickstoff. Bei Auswertung der 1. Stufe ($E_{1/2} = -0{,}403$ V gegen die gesätt. Kalomelelektrode) werden stets $75 \pm 4\%$ As wiedergefunden, was für toxikologische Bestimmungen ausreicht. Die Methode ist sehr spezifisch, wird durch Antimon nicht beeinflußt und ermöglicht den Nachweis von Mengen bis hinab zu 1 μg.

[1] Bull. Soc. chim. France **1958**, 717—719 (1958). Fac. Med. Pharm., Marseille (Frankreich). — [2] Analyt. Chemistry **26**, 593 (1954); vgl. diese Z. **146**, 367 (1955). — [3] J. Pharmac. Chim. **24**, 241 (1921). K. Cruse

Die Isolierung von Barbituraten aus verwesendem Organmaterial für forensische Zwecke wird nach E. J. Algeri[1] wie folgt durchgeführt: Man homogenisiert 10 g des Analysenmateriales, insbesondere Leber, mit 50 ml warmem Wasser, überführt den Organbrei in einen Erlenmeyer-Kolben, spült mit 35 ml Wasser nach und gibt 10 ml 20%ige Schwefelsäure und 5 ml 50%ige Natriumwolframatlösung zu. Nach kräftigem Durchschütteln saugt man den Ansatz ab und schüttelt das etwa 80 ml messende Filtrat 2 mal mit je 25 ml Chloroform (Clf) aus, wobei man, falls Emulsionsbildung auftritt, zentrifugiert. Die vereinigten Clf-Auszüge schüttelt man mit 6 ml 0,05 n Natronlauge aus, bringt diesen Extrakt mit 0,2 m Borsäurelösung auf p_H 9,5 und nimmt nach bekanntem Verfahren die UV-Absorptionskurven der Testlösung bei p_H 9,5 und p_H 2,0 auf. Nach diesem Verfahren lassen sich 95% des vorhandenen Barbiturates erfassen. Schüttelt man anschließend die saure Lösung mit Äther aus, so lassen sich diese Auszüge nach dem Eindampfen für die papierchromatographische Identifizierung des Barbiturates verwenden. Verf. berichtet über die toxikologische Bearbeitung eines Falles von Pentobarbitalvergiftung.

[1] J. forensic Sci. **2**, 443—455 (1957). Harvard Med. School, Boston, Mass. (USA). K. Söllner

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung des Muschelgiftes, die sie mit einer früheren biologischen[1] vergleichen, haben E. F. McFarren, E. J. Schantz, J. E. Campbell und K. H. Lewis[2] entwickelt. Zu den Versuchen dienen die Muscheln „Mya arenaria" und „Saxidomus giganteus". Aus anderen Fanggebieten sind die gleichen Tiere ungiftig. Der Giftstoff wird aus dem zerkleinerten Muschelfleisch mit 0,5 n Trichloressigsäure ausgezogen und ausgekocht und dann nach Durchlaufen einer Ionenaustauschersäule (Amberlite XE—64) mittels alkalischer Pikrinsäurelösung nachgewiesen. Die Farbe wird im Wasserbad bei 38° C (20 min) entwickelt und bei 510 mμ ausgemessen. Verff. stellen störende Substanzen fest, die unter gleichen Bedingungen werterhöhend sind. Aus den ungiftigen Tieren sind diese auf gleiche Weise extrahiert worden. Erhitzt man die Proben 15 min auf 100° C, so nimmt die Färbung der Störsubstanzen zu, während die Färbung des Giftstoffes nur noch $^1/_3$ beträgt. Aus dieser Beobachtung wird eine Formel berechnet, mit deren Hilfe der Gehalt an Giftstoff bestimmt werden kann. Verfährt man nach den angegebenen Arbeitsvorschriften, so berechnet sich der Giftgehalt in μg zu $P = (150\, d_{38} - 28\, d_{100})/0{,}4$, wobei d_{38} und d_{100} die Absorptionen bei 38° und 100° C bei 510 mμ bedeuten. Die chemische Bestimmung ist genauer als die biologische; die Genauigkeit beträgt $\pm$ 45,6 μg für 100 g Muschelfleisch.

[1] Sommer, H. u. K. F. Meyer: Arch. Pathol. **24**, 560 (1937). — [2] J. Assoc. off. agric. Chemists **41**, 168—177 (1958). Publ. Health Service, Cincinnati, Ohio (USA). B. Rossmann